



CENTRO AGRONÓMICO TROPICAL DE INVESTIGACIÓN Y ENSEÑANZA

DIVISIÓN DE EDUCACIÓN
PROGRAMA DE POSGRADO

Evaluación del efecto de diferentes manejos de nutrición y sombra sobre la resistencia fisiológica de la planta de café (*Coffea arabica*) a la roya (*Hemileia vastatrix*), en discos de hoja en condiciones controladas de laboratorio

Tesis sometida a consideración de la División de Educación y Programa de Posgrado
como requisito para optar por el grado de

Magister Scientiae en
Agroforestería y Agricultura Sostenible

Por

Víctor Roberto Naranjo Zúñiga

Turrialba, Costa Rica
2018

Esta tesis ha sido aceptada en su presente forma por la División de Educación y el Programa de Posgrado del CATIE y aprobada por el Comité Consejero del estudiante, como requisito parcial para optar por el grado de

MAGISTER SCIENTIAE EN AGROFORESTERIA Y AGRICULTURA SOSTENIBLE

FIRMANTES:



Jacques Avelino, Ph.D.
Director de tesis




Luis Pocasangre, Ph.D.
Miembro Comité Consejero

Karel van den Meersche, Ph.D.
Miembro Comité Consejero



Gerardo García, M.Sc.
Miembro Comité Consejero



Isabel A. Gutiérrez-Montes, Ph.D.
Decana Programa de Posgrado



Victor Roberto Naranjo Zúñiga
Candidato

Dedicatoria

A Dios, por las bendiciones que me ha regalado en la vida, entre ellas la hermosa experiencia del CATIE.

A mi familia, mi madre Victoria Zúñiga, padre Roberto Naranjo, hermano Martín Naranjo, abuela Luz Helia Godínez, abuelo Víctor Zúñiga, tía Emilia Zúñiga, tía Angelina Zúñiga, primos y primas.

A mis compañeros de generación 2016-17, en especial a: Laura Escarraga, Camilo Vélez, Pablo Chacón, Adrián Rossi y Paolo Xiu.

Agradecimientos

A Dios, por la oportunidad de vivir y estudiar en CATIE.

A mi familia, por su apoyo y sacrificios.

A mis tutores Jacques, Luis, Gerardo y Karel, por guiarme en este proceso de aprendizaje. Gracias por sus conocimientos, consejos, apoyo.

Al CATIE, por la oportunidad de formar parte de la FAMILIA CATIE.

Al CONICIT/MICITT, por la confianza que depositó en mí y brindarme la beca de estudio. Estoy sumamente agradecido.

A Catholic Relief Services, por el soporte económico de la presente investigación.

Índice general

Dedicatoria	III
Agradecimientos	IV
Índice general	V
Índice de cuadros.....	VIII
Lista de acrónimos	XII
Resumen	XIII
Abstract	XIV
1. Introducción general.....	1
1.2. Objetivos e hipótesis	3
1.2.1. Objetivo general.....	3
1.2.2. Objetivos específicos.....	3
1.3. Hipótesis de investigación.....	3
2. Marco teórico	3
2.1. Descripción del Coffea arabica	3
2.2. La roya del café.....	4
2.3. Impacto de la roya en Centroamérica (epidemia del 2012).....	5
2.4. Ciclo de vida de la roya del café	6
2.4.1. Diseminación.....	6
2.4.2. Germinación.....	6
2.4.3. Penetración.....	6
2.4.4. Colonización.....	6
2.4.5. Esporulación.....	6
2.5. Epidemiología de la roya y factores que la afectan.....	7
2.5.1. Inóculo inicial.....	7
2.5.2. El inóculo secundario	7
2.6. Relaciones entre el manejo de la nutrición y la sombra con la roya del café.....	8
2.6.1. Efecto de la nutrición en la roya del café	8
2.6.2. Efecto de la sombra en la roya del café.....	9
3. Principales resultados y conclusiones	10
4. Referencias bibliográficas	12
Artículo I. Efecto de diferentes tipos de manejo de nutrición y sombra sobre la resistencia fisiológica a <i>Hemileia vastatrix</i> , mediante inoculaciones en discos de hoja en laboratorio	16
1. Introducción	18
2. Materiales y métodos	20

2.1.	Experimentos SAF de café (1 y 2)	20
2.1.1.	Ubicación y descripción general del ensayo SAF de café, CATIE	20
2.1.2.	Descripción del manejo de los tratamientos en estudio.....	21
2.1.3.	Diseño experimental.....	21
2.1.4.	Marcado de plantas en las parcelas en estudio	22
2.1.5.	Metodología de muestreo foliar y suelos	23
2.1.5.2.	Muestreo de suelo.....	24
2.2.	Experimento de vivero (3).....	24
2.2.1.	Ubicación y descripción del área de estudio	24
2.2.2.	Descripción del manejo de las plantías	25
2.2.3.	Descripción de los factores y tratamientos: fertilización, cal y composta.....	25
2.2.4.	Diseño experimental: fertilización-cal y fertilización-composta.....	26
2.2.5.	Metodología de muestreo foliar por parcela.....	27
2.3.	Metodología de inoculación de discos de hoja para los experimentos 1, 2 y 3.....	27
2.3.1.	Tamaño de muestra-discos de hoja para los experimentos	27
2.3.2.	Desinfección de las hojas	28
2.3.3.	Corte de los discos.....	28
2.3.4.	Cámara húmeda.....	28
2.3.5.	Inoculación del disco de hoja	29
2.4.	Variables en estudio experimentos 1, 2 y 3	29
2.4.1.	Variables químicas foliares	29
2.4.2.	Variables químicas de suelo	30
2.4.3.	Variables medidas sobre los discos de hoja	30
2.5.	Métodos estadísticos	31
2.5.1.	Análisis descriptivos de los factores químicos foliares y de suelo de los diferentes experimentos	31
2.5.2.	Evaluación del efecto de la resistencia fisiológica sobre los procesos de colonización y esporulación de la roya sobre discos de hoja de café, experimentos 1, 2 y 3.....	32
3.	Resultados	33
3.1.	Descriptores de los discos de hoja inoculados: experimentos 1, 2 y 3.....	33
3.2.	Efecto de los diferentes tipos de manejo de sombra y nutrición sobre la composición química de la hoja de café y suelo.....	34
3.2.1.	Comparación entre sombra-manejo nutricional según las variables de suelo	34
3.2.2.	Comparación entre sombra-manejo según las variables foliares.....	35
3.2.3.	Comparación fertilización-composta según las variables foliares	37

3.2.4.	Comparación fertilización-cal según las variables foliares	38
3.3.	Relación entre variables foliares y de suelo por experimento	39
3.3.1.	Relación entre variables foliares y de suelo: experimento 1	39
3.3.2.	Relación entre variables foliares y de suelo: experimento 2	41
3.3.3.	Relación entre variables foliares: experimento 3	44
3.4.	Efecto de la resistencia fisiológica sobre el proceso de colonización (área de lesión)	45
3.4.1.	Experimento 1, SAF de café	45
3.4.2.	Experimento 2, SAF de café	48
3.4.3.	Experimento 3, vivero de plantías de café.....	50
3.5.	Efecto de la resistencia fisiológica sobre el proceso de esporulación (área esporulada, conteo de uredosporas e intensidad de esporulación), experimento 1.....	53
4.	Discusión.....	55
4.1.	Efecto de los tratamientos (nutrición y sombra) sobre la composición química del suelo	55
4.2.	Efecto de los tratamientos (nutrición y sombra) sobre la composición química foliar	56
4.3.	Efecto de los factores de manejo nutricional y sombra sobre el proceso de colonización de la roya en los discos de hoja (crecimiento del área de lesión).....	57
4.4.	Efecto de los factores de manejo nutricional y sombra sobre el proceso de esporulación de la roya en los discos de hoja (área esporulada), conteo e intensidad de esporulación)	58
5.	Conclusiones	61
6.	Recomendaciones.....	62
7.	Referencias bibliográficas	63
8.	Anexos.....	67

Índice de cuadros

Cuadro 1. Pérdidas causadas por la epidemia de roya del 2012 en la producción cafetera del 2012-13 en Centroamérica-	5
Cuadro 2. Áreas que requieren renovación o poda severa como resultado de la epidemia de la roya anaranjada del 2012 en cafetales de Centroamérica.....	5
Cuadro 3. Tratamientos de manejo de nutrición y sombra en los experimentos 1 y 2, SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	22
Cuadro 4. Tratamientos del experimento fertilización por cal en sus dosis respectivas aplicados en el ensayo de vivero, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	26
Cuadro 5. Tratamientos experimento fertilización-composta en sus dosis respectivas aplicadas en el ensayo de vivero, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	27
Cuadro 6. Variables foliares del contenido de nutrientes y su respectiva unidad de medida utilizados en el análisis químico foliar de hojas de café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica	29
Cuadro 7. Rangos óptimos del contenido químico de nutrientes a nivel foliar para el cultivo del café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica	30
Cuadro 8. Variables de suelo del contenido de nutrientes y su respectiva unidad de medida, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica	30
Cuadro 9. Rangos óptimos del contenido químico de nutrientes en el suelo para el cultivo del café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica	30
Cuadro 10. Cuadrícula de la cámara de Neubauer constituida por nueve cuadros grandes, cada uno de una superficie de 1 mm ² y 0,1 mm de profundidad.....	31
Cuadro 11. Experimento 1, discos de hoja de café utilizados para la medición del área de lesión por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	33
Cuadro 12. Experimento 2, discos de hoja de café utilizados para la medición del área de lesión por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	33
Cuadro 13. Experimento 3, (fertilización-cal) discos de hoja de café utilizados para la medición del área de lesión por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica	33
Cuadro 14. Experimento 3, (fertilización-composta) discos de hoja de café utilizados para la medición del área de lesión por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	34
Cuadro 15. Experimento 1, discos de hoja de café utilizados para la medición del área esporulada por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica	34
Cuadro 16. Experimento 1, discos de hoja de café utilizados para la medición del conteo de uredosporas por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica	34
Cuadro 17. Prueba de significancia para las variables de suelo según los factores de sombra, manejo nutricional y su interacción en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	34
Cuadro 18. Medias ajustadas para las interacciones simples significativas en los contenidos de nutrientes del suelo en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	35
Cuadro 19. Prueba de significancia para las variables foliares según los factores sombra, manejo nutricional, experimento y sus interacciones en ensayos de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica....	35
Cuadro 20. Medias ajustadas para las interacciones simples significativas en los contenidos de nutrientes foliares en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	36
Cuadro 21. Prueba de significancia para las variables foliares, según los factores fertilización y composta en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	38
Cuadro 22. Medias ajustadas para las interacciones simples significativas de los factores fertilización y composta en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes.....	38

Cuadro 23. Prueba de significancia para las variables foliares según los factores fertilización, cal y sus interacciones en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	38
Cuadro 24. Medias ajustadas para las interacciones simples significativas, según los factores de fertilización y cal, en el contenido de nutrientes foliares en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	39
Cuadro 25. Correlaciones entre la variable latente 1 y los nutrientes de las variables foliares y de suelo ($p \leq 0,05$), experimento 1 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	48

Índice de figuras

Figura 1. Diagrama de flujo del ciclo de vida de <i>Hemileia vastatrix</i> (líneas continuas) y factores que lo afectan (líneas discontinuas)	7
Figura 2. Ejemplo de parcela con sombra de árboles de cashá con manejo BO en el experimento, SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	20
Figura 3. Programa de manejo agronómico para los tratamientos en estudio y las respectivas fechas de muestreos de los experimentos 1 y 2, SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	21
Figura 4. Plantas marcadas en las parcelas para cada tratamiento en el SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	23
Figura 5. Hojas muestreadas de café provenientes del antepenúltimo nudo de la bandola y del tercio superior de la planta, para corte de los discos y conformación de la muestra foliar	24
Figura 6 Plantías de café establecidas por parcela, para cada tratamiento.....	24
Figura 7. Par de hojas textura terciopelo colectado aleatoriamente muestreadas para el análisis químico completo, invernadero del Banco de Semillas, CATIE, Turrialba, Costa Rica	27
Figura 8. Cámara húmeda para conservar los discos de hoja inoculados con uredosporas de roya de café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	28
Figura 9. Discos de hoja inoculados con uredosporas de roya de café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	29
Figura 10. Análisis de medias ajustadas para las interacciones dobles del contenido de N y Zn según el experimento de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$).....	37
Figura 11. Análisis medias ajustadas para las interacciones dobles del contenido de N y Cu, experimento fertilización-cal en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$)	39
Figura 12. Representación de los dos primeros ejes de un análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS), donde la variable independiente son los análisis de suelos y las variables dependientes los análisis foliares de discos de café, experimento 1, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	40
Figura 13. Descripción de las principales relaciones observadas sobre las variables latentes 1 y 2, según su distribución respectiva sobre los ejes X y Y del análisis PLS (Figura 12).....	40
Figura 14. Representación de los dos primeros ejes de un análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS), donde la variable independiente son los análisis de suelos y las variables dependientes los análisis foliares, experimento 2, CATIE, Turrialba, Costa Rica	41
Figura 15. Descripción de las principales relaciones observadas sobre las variables latentes 1 y 2, según su distribución respectiva sobre los ejes X y Y del análisis PLS (Figura 14).....	42
Figura 16. Representación del eje 1 y 3 del análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS), donde la variable independiente corresponde a los análisis de suelos y la dependiente a los análisis foliares, experimento 2 , CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	43
Figura 17. Descripción de las principales relaciones observadas sobre las variables latentes 1 y 3, según su distribución respectiva sobre los ejes X y Y del análisis PLS (Figura 16).....	43
Figura 18. Representación de los dos primeros ejes de un análisis de componentes principales (ACP), para las variables foliares en función de los tratamientos fertilización-cal en café, experimento 3, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	44
Figura 19. Representación de los dos primeros ejes de un análisis de componentes principales (ACP), para las variables foliares en función de los tratamientos fertilización-composta en café, experimento 3, CATIE, Turrialba, Costa Rica.....	45

Figura 20. Curva de crecimiento del área de lesión promedio por tratamiento. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$), experimento 1, SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	46
Figura 21. Medias del área de lesión por bloques por tratamiento sobre la variable latente 1, experimento 1 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	47
Figura 22. Curva de crecimiento del área de lesión por tratamiento, experimento 2 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$).....	49
Figura 23. Relación entre el crecimiento acumulado del AL promedio con la latente 3 del experimento 2 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Contenido de nutrientes significativa, correlación de Pearson ($p \leq 0,05$).....	50
Figura 24. Curva de crecimiento del AL en función de cada tratamiento fertilización-composta del experimento 3 vivero de plantías de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$)	51
Figura 25. Curva de crecimiento del AL en función de los tratamientos fertilización-cal del experimento 3 vivero de plantías de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$)	52
Figura 26. Relación no lineal del contenido foliar de Zn y el AL promedio presentada en el experimento 3 vivero de plantías de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	53
Figura 27. Relación entre el área de esporulación y el conteo de uredosporas según los tratamientos del experimento 1 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica	54
Figura 28. Representación de los discos de hoja por tratamiento y representación gráfica de la intensidad de esporulación respecto a la variable latente 2 del experimento 1 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Nutrientes graficados presentaron correlaciones significativas con la variable latente 2 ($p \leq 0,05$)	55

Lista de acrónimos

CATIE: Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza

CIRAD: Centre de Cooperation Internationale en Recherche Agronomique le Developpement, Francia

CRS: Catholic Relief Services

SAF: Sistema agroforestal

CICE: Capacidad de intercambio efectiva

SA: Saturación de acidez (%)

Ca: calcio

Fe: hierro

K: potasio

N: nitrógeno

P: fósforo

S: azufre

Zn: zinc

AC: alto convencional

MC: medio convencional

MO: orgánico intensivo

BO: bajo orgánico

ha: hectárea

°C: grados centígrados

ppm: partes por millón

cmol(+)/L: centimoles por litro

Resumen

El fuerte impacto de la roya del 2012 obligó a replantearse aspectos de manejo del cultivo de café, entre los que destacan la nutrición y el uso de árboles de sombra. El presente estudio tuvo el objetivo de evaluar el efecto de diferentes tipos de manejo de nutrición y sombra sobre la resistencia fisiológica del café (*Coffea arabica*), a la roya (*Hemileia vastatrix*), mediante inoculaciones de discos de hoja, en condiciones controladas de laboratorio.

En dos temporadas contrastadas, marzo del 2016 y noviembre del 2017, se tomaron muestras de un experimento de campo de largo plazo de café en el Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), con diferentes tipos de sombra y diferentes manejos de fertilización. Para determinar el efecto de la sombra y la nutrición sobre la composición química del suelo y la hoja, se realizaron análisis químicos completos de suelo y foliares. Para determinar el efecto de la sombra y la nutrición sobre los procesos de colonización y esporulación de la roya, se midieron las variables de: crecimiento del área de lesión, área de esporulación, conteo e intensidad de esporulación. Se encontró que los tratamientos de manejo orgánico mejoran las condiciones químicas del suelo respecto a los de manejo convencional. El contenido de nutrientes químicos a nivel foliar varió entre temporadas. En promedio en marzo 2017 se presentó un mayor contenido de Ca, Mg y K foliar. Para la variable área de lesión, se encontraron relaciones contradictorias con lo reportado en la literatura para el Ca y el N. También se encontraron efectos no lineales del Mn, K y Zn, dependiendo de su contenido en la hoja, se afectó de manera positiva o negativa el desarrollo del área de lesión. Por ello, las contradicciones aparentes en los efectos de los nutrientes sobre el proceso de colonización muestran la complejidad de las relaciones entre la resistencia fisiológica del hospedero y el patógeno.

Se realizó un tercer experimento en invernadero para investigar el efecto combinado de fertilizantes químicos y composta o cal; se midieron los mismos parámetros que en el campo. Los resultados de este experimento presentaron una relación no lineal entre el área de lesión y el contenido foliar de Zn, donde entre 22,25 y 36,50 mg/kg se presentaron las menores áreas de lesión. Para la variable de intensidad de esporulación (no se contó con repetición), se obtuvieron relaciones significativas y positivas con el contenido químico en el suelo de Fe, Cu, K, Zn, acidez y SA, además de una relación casi significativa y positiva con el N ($p=0,08$). Se sugiere probar la aplicación de diferentes dosis de N y Zn a nivel foliar y de suelo en plántas de vivero bajo condiciones controladas.

Palabras clave: Agroforestería, colonización, esporulación, fertilización, nitrógeno, zinc.

Abstract

The strong impact of the rust in 2012 forced to rethink aspects of management of coffee crop, among which nutrition and the use of shade trees stand out. The present study had the objective of evaluating the effect of different types of nutrition and shade management on the physiological resistance of coffee (*Coffea arabica*) to rust (*Hemileia vastatrix*), by inoculations of leaf discs, in controlled laboratory conditions.

In two contrasting seasons, March 2016 and November 2017, samples were taken from a long-term coffee field experiment at the Tropical Agricultural Research and Higher Education Center (CATIE), with different types of shade and different fertilization managements. To determine the effect of shade and nutrition on the chemical composition of the soil and the leaf, complete chemical analyzes of soil and foliar were carried out. To determine the effect of shade and nutrition on the processes of colonization and rust sporulation, the following variables were measured: growth of the lesion area, sporulation area, spore counting and intensity of sporulation. It was found that the organic management treatments improve the chemical conditions of the soil with respect to those of conventional management. The content of chemical nutrients at leaf level varied between seasons. On average in March 2017 there was a higher content of Ca, Mg and K foliar. For the variable lesion area, contradictory relationships were found with what was reported in the literature for Ca and N. Non-linear effects of Mn, K and Zn were also found; the development of the area of injury was positively affected or negatively depending on the leaf content. Therefore, the apparent contradictions in the effects of nutrients on the colonization process show the complexity of the relationships between the host physiological resistance and the pathogen.

A third greenhouse experiment was conducted to investigate the combined effect of chemical fertilizers and compost or lime; the same parameters were measured as in the field. The results of this experiment showed a non-linear relationship between the lesion area and the Zn foliar content, where the smallest lesion areas were observed between 22,25 and 36,50 mg / kg. For the variable intensity of sporulation (there was no repetition), significant and positive relationships were obtained with the chemical content in the soil of Fe, Cu, K, Zn, acidity and SA, in addition to an almost significant and positive relationship with the N ($p = 0,08$). It is suggested to test the application of different doses of N and Zn at leaf and soil level in nursery plants under controlled conditions.

Keywords: Agroforestry, colonization, sporulation, fertilization, nitrogen, zinc.

1. Introducción general

La principal enfermedad del café (*Coffea arabica*) es la roya anaranjada. Esta enfermedad es causada por el hongo biótrofo (*Hemileia vastatrix*). La forma de penetrar en la planta es por el envés de la hoja, a través de los estomas. Los primeros síntomas de infección se observan como pequeñas lesiones amarillentas, translúcidas. El hongo continúa con su desarrollo hasta que las lesiones producen uredosporas de color anaranjado. Las principales formas de dispersión del hongo son el viento, la lluvia y las personas (Avelino *et al.* 1999).

El primer reporte de la roya se hizo en la isla de Ceilán, hoy Sri Lanka en 1869. En ese mismo año el micólogo Berkeley la describió y nombró como *Hemileia vastatrix*. Para 1970 se reportó el hongo en Brasil (Mc Cook 2009), en 1976 en Nicaragua y luego sucesivamente, se diseminó por Centroamérica (Schuppener *et al.* 1977).

Desde el establecimiento del hongo en Mesoamérica, las primeras epidemias severas se reportaron en Colombia en 1987-88 y en Costa Rica en 1989-90; posteriormente Nicaragua fue afectada en 1995-96, El Salvador en 2002-03 y Colombia sufrió otra epidemia severa entre el 2008 y 2011 (Avelino y Rivas 2013).

Sin embargo, tras aproximadamente 30 años de convivir con la enfermedad y controlarla sin mayores dificultades, en el 2012 se presentó la epidemia más agresiva reportada hasta la fecha en Centroamérica. El ataque se desarrolló de forma inusual e intensa, provocando defoliaciones severas e incluso muerte precoz de ramas. Esto conllevó a pérdida de frutos y cosecha en el mismo año de reportada la epidemia. Este comportamiento de afectación de la cosecha el mismo año es poco común, ya que usualmente el efecto de una epidemia sobre el cultivo se da al final del ciclo productivo o hasta el año después de reportada (Avelino y Rivas 2013).

A la fecha, no se han podido dilucidar con seguridad los principales factores que influyeron para el desarrollo de la epidemia de roya del 2012. Sin embargo, Roza *et al.* (2012), relacionan el ataque de Colombia entre el 2008-11, particularmente al incremento de lluvias. Avelino y Rivas (2013), mencionan un aumento de las temperaturas en Centroamérica, especialmente las mínimas, además de una disminución en las precipitaciones. Otra causa asociada a la epidemia es la caída del precio internacional del grano en un 30%, respecto al año anterior. Esta reducción hizo no rentable la caficultura en algunos países de Centroamérica, obligando a los productores a disminuir el manejo en sus plantaciones.

Aunque la epidemia del 2012 fue generalizada en toda Centroamérica, se observaron efectos controversiales en el ataque de roya. Por ejemplo Villarreyna (2014), en los municipios de Jinotega, El Tuma-La Dalia y San Ramón en Nicaragua, identificó fincas poco afectadas dentro de sitios con altas infecciones. Estas fincas compartían variedades susceptibles y condiciones agroecológicas, sin embargo, discrepaban en el tipo de manejo, según el productor. Según Estévez (1995), la aplicación de labores culturales puede reducir hasta en un 35% la incidencia de una plaga sobre el cultivo. Avelino *et al.* (2004), también mencionan que el manejo realizado por el productor puede tener un efecto positivo o negativo sobre la incidencia de la enfermedad.

Zambolim *et al.* (1994), mencionan la importancia de integrar diferentes prácticas de manejo para lograr un control adecuado de las enfermedades. Según Villarreyna (2014), prácticas de manejo como fertilización, aplicación de fungicidas, manejo de sombra, entre otras, marcan diferencia en el impacto de la enfermedad.

Las diferencias de incidencia de la enfermedad relacionadas con la nutrición del cafeto podrían explicarse por efectos epidemiológicos, como por ejemplo el efecto de dilución de la enfermedad debido al buen crecimiento del hospedero (Ferrandino 2008), o por efectos sobre la resistencia fisiológica a la roya. Dordas (2008), explica cómo el contenido de nutrientes puede incidir sobre la resistencia fisiológica de la planta a plagas y enfermedades. Este autor especifica que el efecto de la nutrición puede limitar la penetración, desarrollo y reproducción de los patógenos. McMahon (2012), establece que el pH del suelo es un factor limitante en la disponibilidad de nutrientes para la planta y la adición de materia orgánica ayuda a mejorar las condiciones de aireación y retención de humedad del suelo.

Sin embargo, el efecto de la nutrición en la planta ante el ataque de patógenos es contradictorio. La nutrición puede aumentar o reducir la resistencia fisiológica de la planta según el tipo de patógenos (Avelino *et al.* 2011). Existen diferentes tipos de parásitos, entre estos los necrótrofos y los biótrofos. Los parásitos necrótrofos rompen las células de la planta hospedera y se alimentan de los productos de la degradación de éstas. Mientras, los biótrofos mantienen las células del hospedero vivas, desviando su metabolismo para alimentarse de ellas (Mendgen *et al.* 2000). Por tanto, Dordas (2008) y Avelino *et al.* (2011), mencionan que los parásitos biótrofos se favorecen de una adecuada nutrición del hospedero, especialmente nitrogenada, mientras que los necrótrofos se ven afectados debido a que la adecuada nutrición vuelve a las células más difíciles de degradar.

En el caso de la roya del café se ha visto que la resistencia fisiológica de la planta es reducida a mayor carga fructífera (Costa *et al.* 2006, López-Bravo *et al.* 2012). Avelino y Rivas (2013), reportaron que la sombra puede tener un efecto regulador sobre la carga fructífera del cafeto y por lo tanto, disminuir o aumentar la receptividad de éste a la roya. Esto sugiere que hay factores nutricionales involucrados en la resistencia fisiológica del cafeto a la roya. Costa *et al.* (2006), proponen que compuestos fenólicos responsables de la protección de la hoja se re-mobilizan a los frutos en mayor cantidad cuando la carga fructífera es alta. Por otro lado, se comprobó que la constante incorporación de hojas nuevas produce un efecto de dilución en la incidencia de la roya del café (López-Bravo *et al.* 2012). Avelino *et al.* (2006) también reportaron que en Honduras la incidencia de la enfermedad fue menor en las parcelas que recibieron fertilización.

De Melo y Barrios (2012), mencionan como los SAF con café, en especial con árboles de sombra de alto valor comercial, promueven mayor biodiversidad de fauna (avifauna y macrofauna del suelo), protección de los suelos, provisión de servicios ambientales, además de rentabilidad económica. La sombra también afecta el desarrollo de las plagas y enfermedades (Avelino *et al.* 2011). Rojas *et al.* (2005), mencionan que en el cultivo del café los árboles de sombra fijan nitrógeno en el suelo (especies leguminosas), incorporan hojarasca y mejoran la aireación del suelo con sus raíces. Además, la sombra promueve el desarrollo del controlador biológico de la roya *Lecanicillium lecanii*. Según Avelino *et al.* (2004), la sombra incrementa la incidencia de la roya. En cafetales bajo sombra el microclima es más estable, favorece la retención de humedad en la hoja y, amortigua las altas temperaturas, lo que favorece el proceso de germinación y penetración de las uredosporas. De igual manera, disminuye la cantidad de luz y la radiación que llega a la planta, lo que favorece la germinación de las uredosporas. Además, la sombra aumenta el tiempo de vida de la hoja en la planta, y el hongo se ve favorecido con un mayor tiempo de ciclo de vida para la producción de uredosporas.

Brenes (2016) y Segura (2016), en estudios complementarios, reportaron efectos opuestos de la sombra sobre los procesos de dispersión aérea y lavado de las esporas de roya. Establecieron que bajo sombra,

cuando llueve, se favorece el proceso de dispersión, especialmente durante la noche, debido a que el agua se acumula en las hojas del árbol de sombra, formando gotas gordas de agua las cuales caen con más fuerza impactando las hojas y liberando las uredosporas que se encuentran en el envés. Por el contrario, en días secos la sombra reduce la dispersión de las uredosporas porque los árboles interceptan el viento, el cual es el que las libera y transporta en ausencia de lluvia. Segura (2016), reportó diferencias de mayor lavado de esporas en los tratamientos a pleno sol con respecto a los de sombra, ya que al pleno sol, las lluvias son más homogéneas y producen un mayor efecto de escurrimiento en las plantas. Para el caso de la sombra, está intercepta el agua y al haber menos agua en la plantación, se produce menor lavado.

Debido a los efectos contradictorios sobre el efecto de la nutrición y la sombra sobre el desarrollo de la roya observados durante la epidemia del 2012, se llevó a cabo el presente estudio con el objetivo evaluar cómo el empleo de diferentes manejos de nutrición y tipos de sombra permiten mejorar la resistencia fisiológica de la planta de café a la roya.

1.2. Objetivos e hipótesis

1.2.1. Objetivo general

- Evaluar el efecto de diferentes tipos de manejo de nutrición y de sombra sobre la resistencia fisiológica del café (*Coffea arabica*) a la roya (*Hemileia vastatrix*), mediante inoculaciones en discos de hoja en laboratorio.

1.2.2. Objetivos específicos

- Evaluar el efecto de diferentes tipos de manejo en nutrición y sombra sobre la composición química de las hojas.
- Evaluar el efecto del manejo de nutrición y sombra en sistemas agroforestales de café sobre la resistencia fisiológica a la roya, mediante inoculaciones en discos de hoja en laboratorio.
- Evaluar el efecto del manejo de la nutrición aplicando carbonato de calcio, fertilizante y compost al suelo en plantas de vivero sobre la resistencia fisiológica a la roya, mediante inoculaciones en discos de hoja en laboratorio.

1.3. Hipótesis de investigación

- Existe un efecto del manejo de la nutrición y de la sombra sobre la composición química de la hoja.
- Existe un efecto del tipo de manejo de nutrición y de sombra en las plantas de café en SAF sobre la resistencia fisiológica a la roya.
- Existe un efecto de la nutrición en la aplicación de diferentes dosis de fertilizante, carbonato de calcio y composta a plantas de vivero, sobre la resistencia fisiológica a la roya.

2. Marco teórico

2.1. Descripción del *Coffea arabica*

La disponibilidad de recursos genéticos en *Coffea arabica* es limitada debido a que es el resultado de una hibridación bajo condiciones naturales, poco probables, entre *C. eugenoides* y *C. canephora* (Jefuka *et al.* 2010, Cadena y Gaitán 2006). Como resultado de esta hibridación *C. arabica* es la única especie del género *Coffea* tetraploide ($2n = 4x = 44$). Por lo tanto, existe un cuello de botella que causa una homogeneidad genética entre las variedades de *C. arabica*. Esta homogeneidad es un problema para el mejoramiento genético, especialmente en la búsqueda de genes resistentes a plagas y enfermedades. Según Avelino y Rivas (2013), una causa del impacto generalizado de la epidemia de la roya del 2012 en Centroamérica, fue la susceptibilidad de las variedades plantadas de *C. arabica* como: caturra y catuaí.

Labouisse (2012) mencionan como el principal problema para la conservación de los recursos genéticos silvestres de *C. arabica*, localizados en el este de África, es la sobrepoblación, la cual ha causado la necesidad de expansión y por tanto, se han deforestado las montañas donde se encuentra la mayor diversidad genética de materiales silvestres de *C. arabica*.

A continuación se presenta la clasificación taxonómica de la especie *C. arabica*:

Clase: *Magnoliata*

Sub-clase: *Asteridea*

Orden: *Rubiales*

Familia: *Rubiaceae*

Género: *Coffea*

Especie: *Arabica*

Fuente: (Alvarado y Rojas 2007)

2.2. La roya del café

La enfermedad de la roya anaranjada es el resultado de la interacción del agente causal *Hemileia vastatrix* con la planta de café. *Hemileia vastatrix* es un patógeno biotrofo, lo que quiere decir que se alimenta de las células vivas de la planta para lograr su adecuado desarrollo y propagación (Panstruga 2003). Según Mendgen *et al.* (2000) y Vieira *et al.* (2012), la capacidad de los organismos biotrofos para no matar la célula huésped se debe a factores de compatibilidad como proteínas, enzimas y genes que son necesarios para el éxito de la patogénesis. Los primeros síntomas de infección aparecen en el envés de la hoja; son pequeños puntos amarillos translúcidos.

Según Avelino y Rivas (2013), el ciclo infeccioso se puede desarrollar varias veces sobre la misma hoja, dependiendo de su longevidad en la planta. Un gran número de repeticiones del ciclo conduce a epidemias severas. Agrios (1998) y Avelino y Rivas (2013), mencionan que la defoliación prematura de la planta a causa de esta enfermedad puede provocar la muerte precoz de ramas. Epidemias severas de roya pueden producir pérdidas en rendimiento a largo plazo, entre 3-4 años, debido a que una planta severamente afectada se debe podar, esperar a que rebrote y empiece a producir de nuevo. Recientemente se comprobó que las pérdidas de producción el año después de una epidemia eran mayores que las pérdidas del mismo año (38% versus 26%) Cerda *et al.* (2017).

Clasificación taxonómica del hongo:

Phylum: *Basidiomycota*

Clase: *Urediniomycetes*

Orden: *Uredinales*

Familia: *Chaoniaceae*

Género: *Hemileia*

Especie: *Vastatrix*

Fuente: (Avelino y Rivas 2013).

2.3. Impacto de la roya en Centroamérica (epidemia del 2012)

Las pérdidas de producción causadas por la roya del café no están muy bien descritas en la literatura. Sin embargo, la epidemia del 2012 ilustra la capacidad de reducción de producción de esta enfermedad. Las pérdidas ocasionadas por esta epidemia para la cosecha 2012-13 en Centroamérica se estimó aproximadamente en un 20% (Cuadro 1). Los países más afectados fueron Honduras, Guatemala y El Salvador, de los cuales Honduras y Guatemala, además de Costa Rica, declararon estado de emergencia (Avelino y Rivas 2013).

Sumado al efecto de la pérdida en producción debido al efecto de la epidemia que provocó una muerte precoz de ramas jóvenes y defoliaciones severas en las plantas, se estimó que para la epidemia del 2012-13 se recibió un 20% del área cultivada (Cuadro 2) (Avelino y Rivas 2013).

Cuadro 1. Pérdidas causadas por la epidemia de roya del 2012 en la producción cafetera del 2012-13 en Centroamérica-

País	Producción de la cosecha 2011-12 (en millones de sacos de 46 kg de café oro)	Pérdida en 2012-13 (en miles de sacos 46 kg)	Pérdida estimada (%)	Estado de emergencia declarado
Honduras	7,10	2192*	31*	Sí
Guatemala	4,85	730*	15*	Sí
Costa Rica	2,01	97**	5**	Sí
Nicaragua	2,00	58**	3**	No
El Salvador	1,5	442**	23**	No

Fuente: Avelino y Rivas (2013)

Datos proporcionados por los institutos del café o ministerios de los países indicados (IHCAFE, ANACAFE, ICAFE, MAGFOR, PROCAFE), en el marco del proyecto CATIE-CIRAD-PROMECAFE “Control de la Roya del Café en Mesoamérica” financiado por Noruega.

* Reducción de producción con respecto a los estimados de cosecha del año 2011-12, mayormente atribuida a la roya anaranjada.

** Reducción de producción con respecto a los estimados de cosecha del año 2012-13, atribuida a la roya anaranjada.

Cuadro 2. Áreas que requieren renovación o poda severa como resultado de la epidemia de la roya anaranjada del 2012 en cafetales de Centroamérica

País	Área sembrada (en miles de ha)	Área que requiere poda severa (en miles de ha)	Área que requiere renovación (en miles de ha)	Área no productiva en 2013-2014 (%)
Honduras	282,5	70,0	22,0	32,6
Guatemala	276,5	31,3	6,7	13,7
Costa Rica	93,8	14,6	5,1	21,0
Nicaragua	126,2	26,9	ND	21,3
El Salvador	152,2	13,0	1,7	9,7
Total	931,2	155,8	35,5	20,5

Fuente: Avelino y Rivas (2013)

Datos proporcionados por los institutos del café o ministerios de los países indicados (IHCAFE, ANACAFE, ICAFE, MAGFOR, PROCAFE) en el marco del proyecto CATIE-CIRAD-PROMECAFE “Control de la Roya del Café en Mesoamérica” financiado por Noruega.

ND: No hay datos

2.4. Ciclo de vida de la roya del café

El ciclo de vida de la roya del café consta de cinco etapas: diseminación, germinación, penetración, colonización y esporulación (Figura 1).

2.4.1. Diseminación: la diseminación se da por medio de las uredosporas, las cuales tienen un tamaño microscópico (30 micras de largo por 20 micras de ancho) (Rivillas *et al.* 2011). La etapa de diseminación se divide en tres periodos: liberación, dispersión y deposición. La liberación se da con la separación de las uredosporas del esporóforo. Los principales factores que propician la diseminación son: la lluvia, el viento y las personas. Por último, se da la deposición en el tejido vegetal, a mayor cantidad de tejido, mayor probabilidad de deposición (Silva *et al.* 1999, Avelino *et al.* 1999). La lluvia tiene un efecto de lavado sobre las uredosporas. Brenes (2016), comprobó que con la lluvia pueden perderse hasta un 30% de uredosporas, lo cual contribuye directamente a disminuir el efecto de la epidemia ya que las uredosporas lavadas quedan inviables.

2.4.2. Germinación: esta etapa comienza con la deposición de las uredosporas en el envés de la hoja de café (Silva *et al.* 1999). Se ha determinado la etapa de germinación como el inicio del proceso infeccioso en la planta, a pesar de que el hongo se establece y desarrolla a partir de sus propias reservas. Las condiciones óptimas para la germinación del patógeno son: 22°C de temperatura, oscuridad por 24 a 48 horas y agua libre durante el proceso hasta la penetración. Las uredosporas al germinar emiten de 4 a 6 tubos germinativos; este periodo tarda entre 6-8 horas. En la punta de los tubos germinativos se forma un apresorio, el cual es necesario para forzar el ingreso vía estoma en la planta. La formación del apresorio es favorecida por temperaturas de 16°C y oscuridad (Kushalappa y Eskes 1989, Jong 1987).

2.4.3. Penetración: en esta etapa las uredosporas germinadas penetran a través del estoma de la hoja hasta la cámara sub-estomática, mediante una hifa (Silva *et al.* 1999, Vieira *et al.* 2012). El hongo necesita de estomas bien formados para poder ingresar a la hoja, lo cual explica porque hojas jóvenes con estomas incompletos son menos receptivas a la infección que hojas adultas (Kushalappa 1989). En esta etapa es cuando se establece la relación trófica patógeno-hospedero (Avelino *et al.* 1999).

2.4.4. Colonización: esta etapa es un proceso intercelular; a medida que progresa en la hoja, el hongo desarrolla estructuras llamadas haustorios mediante los cuales extrae los nutrientes de las células vivas (Rivillas 2011). En esta etapa empiezan a aparecer los primeros signos de lesiones amarillentas en el envés de la hoja. El tiempo transcurrido entre la germinación y la aparición de los primeros síntomas es el periodo de incubación (Avelino *et al.* 1999).

2.4.5. Esporulación: en esta etapa las hifas invaden la cámara sub-estomática y se produce un agrupamiento de células esporógenas. Estas emergen por la apertura del estoma y forman el esporóforo e inicia la producción de uredosporas. A cada grupo emergido se le llama soro o pústula (Avelino *et al.* 1999). Según Rayner (1972), un conjunto de soros tiene la capacidad de producir 400 000 uredosporas, en tres meses. Con la formación de estas nuevas uredosporas continua el siguiente ciclo infeccioso. El periodo transcurrido entre el inicio de la germinación y la esporulación se llama periodo de latencia. Este periodo es importante ya que, entre más rápido, más se puede repetir el ciclo infeccioso y más grave es la epidemia (Avelino *et al.* 1999).

Otros factores como la carga fructífera, la resistencia, los enemigos naturales y el microclima también pueden afectar el ciclo de vida de la roya, como se observa en la Figura 1 (Avelino *et al.* 1999).

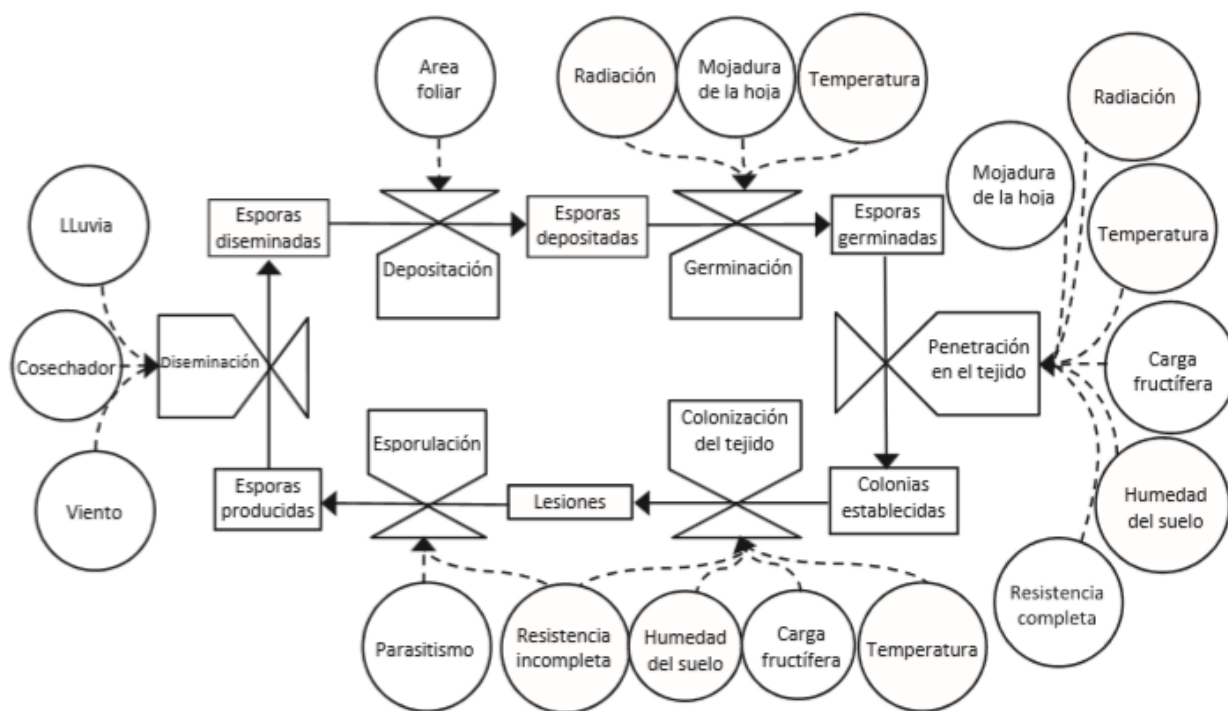


Figura 1. Diagrama de flujo del ciclo de vida de *Hemileia vastatrix* (líneas continuas) y factores que lo afectan (líneas discontinuas)

Tomado de Avelino y Rivas (2013), modificado de Avelino *et al.* 2004.

2.5. Epidemiología de la roya y factores que la afectan

La epidemiología estudia el desarrollo de las poblaciones de los patógenos en las poblaciones del hospedero y los factores que afectan este desarrollo. Avelino y Rivas (2013), mencionan que “la intensidad de la epidemia depende de las interacciones entre el hospedero, el patógeno, el ambiente y el manejo”. Una epidemia de roya se puede dividir en dos etapas: etapa de la producción del inóculo inicial y etapa de la producción del inóculo secundario y repetición sucesiva del ciclo infeccioso.

2.5.1. Inóculo inicial

La mayor fuente del inóculo inicial es el inóculo residual. Este se compone de las hojas infectadas con roya en estado de latencia o necrosadas del ciclo anterior de producción. Algunos factores que afectan la cantidad de inóculo residual son la intensidad de defoliación después de la cosecha, prácticas de manejo como la poda o la aplicación de fungicidas, además de la duración de la época seca. La cantidad del inóculo residual afecta la precocidad de la epidemia; sin embargo, la intensidad de la epidemia dentro del ciclo de cosecha del cultivo depende más de las condiciones ambientales propias para el desarrollo de la epidemia (Avelino y Rivas 2013).

2.5.2. El inóculo secundario

La segunda etapa de la infección comprende la formación del inóculo secundario que resulta de la repetición sucesiva del ciclo patogénico. Algunos de los factores principales que influyen sobre el inóculo

secundario son la temperatura y altitud, la lluvia y el rocío, la carga fructífera de la planta y avance de los recolectores (Avelino y Rivas 2013).

2.5.2.1. La temperatura y altitud

La temperatura y la altitud se encuentran inversamente correlacionadas, a mayor altitud, menor temperatura. La temperatura influye directamente sobre el proceso de germinación, formación del apresorio y el avance del hongo en la hoja. A temperaturas óptimas, tanto el periodo de latencia como la precocidad de la epidemia, se acortan (Avelino y Rivas 2013).

Avelino *et al* (1991) reportaron, durante marzo de 1988 y abril de 1989, en México a 1100 msnm, una infección máxima de 16%, a 730 msnm de 24% y a 460 msnm de 32%. La precocidad de los ataques siguió el mismo patrón. A 460 msnm pasaron 206 días antes de llegar al 50% del desarrollo de la infección, a 730 msnm 223 días y a 1100 msnm 305 días. Esto concuerda con lo indicado por Moreno (1985), en El Salvador a 465 msnm, donde en 1984 entre los meses de mayo a septiembre, el periodo de latencia varió de 27 a 45 días. Los periodos de latencia más cortos se observaron, principalmente, cuando las temperaturas oscilaron entre los 18,8 y 27,7° C. Santacreo *et al.* (1983), reportaron esta tendencia en Honduras, donde a 750 msnm el periodo de latencia fluctuó entre 29 a 62 días y a 1200 msnm entre 40 y 80 días. Con base en estos estudios, se podría indicar que la altitud puede afectar negativamente el desarrollo de la roya en las plantaciones de café.

2.5.2.2. La lluvia y el rocío

En el ciclo epidemiológico de la roya, la lluvia y el rocío presentan efectos contradictorios. La lluvia constituye uno de los medios de transporte de las uredosporas y aporta la humedad necesaria para el desarrollo del patógeno (germinación y penetración). Sin embargo, lluvias excesivas generan un efecto de lavado a la planta de café y una vez en el suelo, las uredosporas mueren (Segura 2016). Por otro lado, la falta de lluvia no es un factor limitante para el desarrollo de la epidemia, debido a que con el agua del rocío en las hojas se genera las condiciones adecuadas para la germinación y la penetración (Avelino y Rivas 2013).

2.5.2.3. Carga fructífera de la planta

El café presenta un comportamiento bienal en su producción. Se ha comprobado que la roya tiene ese mismo comportamiento, debido a que en una planta de café con una carga fructífera alta, los compuestos fenólicos encargados de la defensa de la planta se desvían en mayor proporción hacia el fruto (Costa *et al.* 2006, López-Bravo *et al.* 2012, Dordas *et al.* 2008). Sin embargo, la epidemia del 2012 fue atípica ya que afectó severamente tanto a plantas con baja como alta carga fructífera (Avelino y Rivas 2013).

2.5.2.4. Avance de los recolectores

La recolección del café también afecta el desarrollo de la epidemia ya que las uredosporas son transportadas en la ropa de los cortadores. Durante el inicio de la cosecha comienza el aumento de la incidencia, en plena etapa de maduración es el pico y una vez terminado el periodo de cosecha, comienza el descenso (Avelino y Rivas 2013).

2.6. Relaciones entre el manejo de la nutrición y la sombra con la roya del café

2.6.1. Efecto de la nutrición en la roya del café

El buen estado nutricional de un hospedero no garantiza una alta resistencia fisiológica a patógenos. La estrategia de infección del parásito es determinante. Para Agrios (1998), una fertilización balanceada le permite a la planta mayor resistencia fisiológica ante patógenos. Este autor menciona que los elementos

deben estar en el rango óptimo requerido por la planta, ya que de lo contrario, concentraciones mayores o menores pueden propiciar susceptibilidad a enfermedades. Además, una adecuada fertilización fortalece las barreras de las plantas ante las agresiones bióticas. Las barreras son la cera de la cutícula de la hoja, la pared celular y sustancias químicas. Por ejemplo, en el cultivo de banano, Freitas *et al.* (2015), encontraron menor incidencia de sigatoka amarilla en suelos con mayor contenido de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico, Ca, Mg y S a nivel foliar, mientras que reportaron mayor incidencia en suelos con alto contenido de arena. En el cultivo del café, deficiencias de K están asociadas a mayor susceptibilidad a *Cercospora coffeicola* (Ramírez y Vásquez 1998).

En el caso de parásitos biotróficos como *H. vastatrix*, que requieren células vivas del hospedero para su propio desarrollo, el efecto de la nutrición es menos claro. La incidencia y la severidad de la roya anaranjada han sido relacionadas con características del suelo. Por ejemplo, Lamouroux *et al.* (1995), reportaron que suelos con pH entre 4,7 y 6,5, de contenidos de materia orgánica inferiores a 3%, son más propensos a la enfermedad. Según, Lagos (2014), los elementos del suelo y la nutrición tienen efectos variados sobre la roya. Algunos la desfavorecen incrementando la resistencia fisiológica y el crecimiento del café (efecto dilución), como el fósforo aplicado al suelo o el potasio, zinc y calcio aplicados a nivel foliar. El efecto dilución de la enfermedad (relación entre hojas enfermas y el total de hojas), por la constante incorporación de hojas nuevas en la planta disminuye la incidencia de la enfermedad (Ferrandino 2008). Tal efecto se ha propuesto para la roya del café (Avelino *et al.* 2006). Otros elementos favorecen el crecimiento de la roya mediante un menor crecimiento de las ramas del café como el Fe. Por otro lado, Villarreyna (2014), mediante encuestas a productores en Nicaragua, estableció una relación entre el nivel socioeconómico del productor, la intensidad de manejo y el nivel de afectación por roya; la menor intensidad de roya se presentó en los productores de alto nivel socioeconómico, los cuales, en promedio realizaron entre 2 o 3 aplicaciones de fungidas, como mínimo 2 aplicaciones de fertilizantes foliares y al suelo al año y recibieron como mínimo 10 visitas de técnicos. Por otro lado, Dordas (2008) y Avelino *et al.* (2011), establecieron que los parásitos biotróficos se favorecen de altas concentraciones de N en la planta. Esto concuerda con lo encontrado por Lagos (2014), en Honduras donde hubo mayor incidencia de roya en parcelas donde se aplicaron mayores cantidades de N al suelo.

2.6.2. Efecto de la sombra en la roya del café

Según la literatura, la sombra presenta efectos controversiales sobre el desarrollo de la roya. Algunos autores mencionan que la sombra incrementa la enfermedad, otros que la disminuye; algunos que la roya se incrementa o disminuye dependiendo de la carga fructífera del café y que ésta se encuentra relacionada con la cantidad de sombra. Por esto, determinar el balance de los efectos de la sombra es siempre difícil debido a que son dependientes de las condiciones ecológicas y de manejo propias de cada sitio (Avelino y Rivas 2013).

En principio, entre los beneficios de utilizar árboles de sombra en cafetales se encuentran la incorporación de materia orgánica, fijación de nitrógeno (árboles leguminosos), además de promover las condiciones agroecológicas necesarias para la reproducción de *Lecanicillium lecanii* (controlador biológico de la roya), el cual es favorecido por la mayor humedad (Staver *et al.* 2001).

López-Bravo *et al.* (2012) encontraron mayor incidencia de roya bajo sombra en plantas con cargas fructíferas controladas. Esto sugiere que la sombra favoreció los procesos pre-infecciosos de germinación y penetración, los cuales determinan la incidencia, respecto al pleno sol. Además, este autor encontró temperaturas de hasta 6°C más bajas y mayor tiempo de mojadura de la hoja a la sombra que al sol. Por otro

lado, la severidad, aunque fue mayor bajo sombra, no presentó diferencias significativas, lo cual sugiere que la sombra no tiene efectos directos en el proceso de colonización del hongo en la hoja.

Brenes (2016), en estudios complementarios, estableció que bajo sombra de cashá (*Chloroleucon eurycyclum*), cuando llueve, se favorece el proceso de dispersión, especialmente durante la noche. Esto concuerda con lo encontrado por Boudrot *et al.* (2016), quienes establecieron cómo la sombra en los días con lluvia favorece la dispersión de las uredosporas ya que el agua se acumula en las hojas del árbol de sombra, formando gotas de agua gordas, las cuales caen con más fuerza impactando las hojas y liberando las uredosporas que se encuentran en el envés. Por el contrario, en días secos Boudrot *et al.* (2016) y Brenes (2016) mencionan que la sombra reduce la dispersión de las uredosporas debido a que los árboles interceptan el viento, el cual es el que libera y transporta las uredosporas en ausencia de lluvia.

Segura (2016) reportó mayor lavado de esporas en los tratamientos a pleno sol respecto a los de sombra. Lo anterior indica que se conservan más esporas bajo sombra ya que ésta intercepta el agua y al haber menos agua en la plantación se produce menor lavado comparado con condiciones a pleno sol.

Eskes (1982), determinó que la intensidad de luz a la que son expuestas las hojas, previo a la inoculación, presentó un efecto positivo sobre la intensidad de la esporulación. Esto sugiere que existe una respuesta inducida por la intensidad de luz a la que son expuestas las hojas y la resistencia del hospedero a la infección.

La epidemia del 2012 en Centroamérica tuvo efectos muy diversos en relación a la diversidad de ambientes y el manejo. Sin embargo, se observó un efecto especialmente en las parcelas a pleno sol. La sombra pudo haber ayudado a reducir el impacto de la roya en las condiciones climáticas específicas de este año, interceptando el rocío y eliminando la única fuente de agua libre durante periodos secos inusuales y mejorando el crecimiento de la planta de café al conservar la humedad del suelo (Avelino y Rivas 2013).

3. Principales resultados y conclusiones

Se desarrollaron tres experimentos (1, 2 y 3) para evaluar el efecto de diferentes tratamientos de manejo nutricional y sombra sobre la resistencia fisiológica de la planta de café a *Hemileia vastatrix*, en discos de hoja bajo condiciones controladas. Para evaluar el efecto de la resistencia fisiológica, mediante los procesos de colonización y esporulación, se buscó composiciones químicas foliares diferentes debido al efecto de los tratamientos (nutrición-sombra).

Los primeros dos experimentos (1 y 2) se llevaron a cabo en el ensayo de largo plazo de comparación de sistemas agroforestales del CATIE, los cuales comparten la misma metodología. Sin embargo, los resultados se analizaron por separado. El tercer experimento se desarrolló en vivero. Se establecieron dos pruebas, efecto de la fertilización y de la cal por un lado, y efecto de la fertilización y de la composta, por otro lado. En todos los experimentos se aplicó la misma metodología de inoculación de discos de hoja con uredosporas de roya.

Los experimentos 1 y 2 presentaron diferencias de composición química foliar debido a los efectos de los tratamientos. Los tratamientos orgánicos en promedio obtuvieron mayor contenido de bases (Ca, Mg y K), respecto a los convencionales. Además, el contenido de nutrientes entre los experimentos varió en el tiempo (experimento 1 > Ca, Mg y K > experimento 2).

La composición química de las hojas mostró efectos controversiales sobre el proceso de colonización de la roya. El experimento 1 presentó áreas de lesión en promedio diez veces mayores a las del experimento 2. Se presentaron diferencias en el experimento 1 que no se repiten en el experimento 2. Se presentaron

aparentes efectos no lineales entre experimentos, sobre los efectos del Mn, K y Zn foliares. Además, se encontró una relación congruente entre experimentos (1 y 2) para el P: a mayor contenido foliar, mayor área de lesión. Se presentaron resultados opuestos a lo reportado por la literatura para el contenido de Ca, N foliar y su efecto sobre el área de lesión: mayor cantidad de N, menor tamaño de lesión, y mayor de Ca, mayor tamaño de lesión. Para el experimento 3 se presentó una relación no lineal entre el área de lesión y el contenido foliar de Zn, donde entre 22,25 y 36,50 mg/kg se presentaron las menores áreas de lesión. En este experimento no se encontró relación con ninguna otra variable.

Los aparentes efectos no lineales entre los experimentos (1, 2 y 3) de los nutrientes muestra la complejidad de las relaciones resistencia fisiológica-hospedero-patógeno. Las diferencias sobre el proceso de colonización entre los experimentos 1 y 2 puede deberse a que no se está contemplando el mismo rango de datos entre experimentos. Por tanto, el balance de los efectos de los tratamientos (sombra-nutrición), sobre los procesos de colonización, sigue siendo difícil de estimar.

La esporulación se determinó únicamente en el experimento 1. Se encontró un posible efecto no lineal de la sombra, ya que los mayores valores de conteo e intensidad de esporulación los presentaron los tratamientos con sombra intermedia. La composición química del suelo y foliar presentó efectos positivos para la intensidad de esporulación. A nivel de suelo fueron significativos los contenidos de Fe, Cu, K, acidez, S.A y Zn, mientras a nivel foliar se encontró una relación casi significativa del N ($p=0,08$). Debido a los efectos positivos, se sugiere que el mayor contenido de nutrientes favorece el proceso de esporulación de la roya.

4. Referencias bibliográficas

- Agrios, GN. 1998. Fitopatología. 2 ed. México, Editorial Limusa (Fisiología de las enfermedades de las plantas). p. 11-12.
- Alvarado, M; Rojas, G. 2007. Cultivo y beneficiado del café. Segunda edición. San José, Costa Rica, Editorial Universidad Estatal a Distancia. 165p.
- Avelino, J; Hoopen, GMT; DeClerck, FAJ. 2011. Ecological Mechanisms for Pest and Disease Control in Coffee and Cacao Agroecosystems of the Neotropics. *In* Rapidel, B; Le Coq, J-F; Beer, J. Ecosystem services from agriculture and agroforestry: measurent and payment. Londres, United Kingdom, Eartscan Publications. p. 92-117.
- Avelino, J; Muller, RA; Cilas, C; Velasco Pascual, H. 1991. Development and behavior of coffee orange rust (*Hemileia vastatrix* Berk. and Br.) in plantations undergoing modernization, planted with dwarf varieties in South-East Mexico. *Café Cacao Thé* 35(1):21-37.
- Avelino, J; Muller, R; Eskes, A; Santacreo, R; Holguin, F. 1999. La roya anaranjada del cafeto: mito y realidad. DESAFIOS de la caficultura en Centroamérica. *In* Bertrand, B; Rapidel, B (eds.). Desafíos de la caficultura en Centroamérica. San José, Costa Rica, IICA. p. 194-241.
- Avelino, J; Rivas, G. 2013. La roya anaranjada del cafeto. Disponible en <http://hal.archivesouvertes.fr/hal-01071036>. p. 1-47.
- Avelino, J; Willocquet, L; Savary, S. 2004. Effects of crop management patterns on coffee rust epidemics. *Plant Pathology* 53:541-547.
- Avelino, J.; Zelaya, H.; Merlo, A.; Pineda, A.; Ordóñez, M.; Savary, S. 2006. The intensity of a coffee rust epidemic is dependent on production situations. *Ecological Modelling* 197(3):431-447.
- Boudrot, A; Pico, J; Merle, I; Granados, E; Vílchez, S; Tixier, P; Virginio, E; Casanoves, F; Tapia, A; Allinne, C; Rice, R; Avelino, J. 2016. Shade Effects on the Dispersal of Airborne *Hemileia vastatrix* Uredospores. *Phytopathology* 106:572-580.
- Brenes, A. 2016. Efecto de la sombra de Cashá (*Chloroleucon eurycyclum*) sobre los procesos de colonización, esporulación y dispersión aérea de la roya (*Hemileia vastatrix*) sobre plantas de café (*Coffea arabica*) en la zona de Turrialba, Costa Rica. Thesis Mag. Sc. Turrialba. Costa Rica, CATIE. 50 p.
- Cerda, R; Avelino, J; Gry, C; Tixier, P; Lechevallier, E y Allinne, C. 2017. Primary and secondary yield losses caused by pest and diseases: assessment and modeling in coffee (en línea). *PLoS ONE* 12(1):e0169133. Consultado 1 feb. 2018. Disponible en <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169133>.
- Costa, MN; Zambolim, L; Rodrigues, FA. 2006. Effect of levels of coffee berry removals on the incidence of rust and on the level of nutrients, carbohydrates and reductor sugar. *Fitopatol. Bras.* 31(6):564-571.
- Dordas, C. 2008. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. *Agron. Sustain* 28(1):33-46.

- Estévez V, F.G. 1995. Evaluación del comportamiento de la roya del cafeto (*Hemileia vastatrix*) sin aplicación de agroquímicos. In simposio sobre caficultura latinoamericana (16, 25-29 oct. 1993, Managua, Nicaragua). 1995. Memoria. Tegucigalpa, Honduras, IICA (Guatemala), PROMECAFE, Comisión Nacional del Café, Nic. V. 1, p. 12.
- Esques, A. 1982. The use of leaf disk inoculations in assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). Netherlands Journal of Plant Pathology 88(4): 127-141.
- Ferrandino, FJ. 2008. Effect of crop growth and canopy filtration on the dynamics of plant disease epidemics spread by aerially dispersed spores. Phytopathology 98:492-503.
- Freitas, A; Pozza, E; Alves, M; Coelho, G; Rocha, H; Pozza, A. 2015. Spatial distribution of Yellow Sigatoka Leaf Spot correlated with soil fertility and plant nutrition. Precision Agriculture 17(1):93-107.
- Jefuka, C; Fininsa, C; Adugna, G y Hindort, H. 2010. Coffee Leaf Rust Epidemics (*Hemileia vastatrix*) in Montane Coffee (*Coffea arabica* L.) Forests in Southwestern Ethiopia. East. African Journal of Sciences 4(2): 86-95.
- Jong, E; Esques, A; Hoogstraten, J; Zadoks, J. 1987. Temperature requirements for germination, germ tube growth and appressorium formation of urediospores of *Hemileia vastatrix*. European Journal of Plant Pathology 93(2):61-71.
- Kushalappa, AC. 1989. Biology and epidemiology, in: Coffee rust: epidemiology, resistance and management, A.C. Kushalappa y A.B. Esques, Editores, CRC Press: Florida. p. 16-80.
- Kushalappa, AC; Esques, AB. 1989. Advances in coffee rust research. Annual Review of Phytopathology 27(1):503-531.
- Labouisse JP ; Adolphe, C. 2012. Conservation et gestion des ressources génétiques du caféier arábica (*Coffea arabica* L.): un défi pour l'Éthiopie. Cah Agric 21(2-3):98-105.
- Lagos, S. 2014. Efecto de la condición química del suelo y de la fertilización sobre la incidencia, severidad y resistencia fisiológica de plantas de café a la roya (*Hemileia vastatrix*). Thesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 98 p.
- Lamouroux, N; Pellegrin, F; Nandris, D; y Kohler, F. 1995. The *Coffea arabica* fungal pathosystem in New Caledonia - Interaction at 2 different spatial scales. Journal of Phytopathology-Phytopathologische Zeitschrift 143(7):403-413.
- López-Bravo; DF; Virginio-Filho, EdM; Avelino, J. 2012. Shade is conducive to coffee rust as compared to full sun exposure under standardized fruit load conditions. Crop Protection 38:21-29.
- Mendgen, K; Struck, C; Voegelé, RT; Hahn, M. 2000. Biotrophy and rust haustoria. Physiological and Molecular Plant Pathology 56(4):141-145.
- Moreno de Alas, G. 1985. Evaluación de la influencia de las variables climáticas en el comportamiento epidemiológico de la roya del cafeto en una zona climática de El Salvador. In Simposio sobre caficultura latinoamericana (VIII, 1985, Granada, Nicaragua). s. l., IICA. p. 165-172.

- McMahon, P. 2012. Effect of Nutrition and Soil Function on Pathogens of Tropical Tree Crops. Plant Pathology. In Cumagun, CJ (ed.). Plant Pathology. Disponible en www.intechopen.com/books/plant-pathology/effect-of-nutrition-and-soil-function-on-pathogens-of-tropical-tree-crops. p. 241-272.
- McCook, S. 2009. La Roya del café en Costa Rica: Epidemias, innovación y medio ambiente, 1950-1995. Revista Historia 59-60:99-117.
- Panstruga, R. 2003. Establishing compatibility between plants and obligate biotrophic pathogens. Current Opinion in Plant Biology 6:320-326.
- Ramírez, G; Vásquez, R. 1998. Efecto del potasio sobre el rendimiento de beneficiado y algunas características del grano de café. In Seminario de resultados y avances de investigación. Zamora, L; Canet, G. (eds.). Memoria. San José, Costa Rica, ICAFE. p. 91-94.
- Rayner, RW. 1972. Micología, historia y biología de la roya del cafeto. Turrialba, Costa Rica, IICA. 68 p. (Publicación Miscelánea no. 94).
- Rivillas Osorio, CA; Serna Giraldo, CA; Cristancho Ardila, MA; Gaitan Bustamante, AL. 2011. La roya del cafeto en Colombia - Impacto, manejo y costos del control. Caldas, Colombia, Cenicafe. 51 p.
- Rojas, F; Canessa, R; Ramírez, J. 2005. Cafetales arbolados (en línea). Kurú: Revista Forestal 2(4): 6 p Consultado 10 nov. 2015. Disponible en dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/5123358.pdf.
- Rozo, Y; Escobar, C; Gaitán, Á; Cristancho, M. 2012. Aggressiveness and Genetic Diversity of *Hemileia vastatrix*. During an Epidemic in Colombia. Journal of Phytopathology 11-12: 732-740. Disponible en <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jph.12024> <http://dx.doi.org/10.1111/jph.12024> 10.1111/jph.12024.
- Santacreo, R; Polanco, E; y Oseguera, S. 1983. Periodo de incubación y generación de *Hemileia vastatrix* Berk. & Br. en tres zonas cafetaleras de Honduras, Centro América. In Simposio Latinoamericano sobre Caficultura (1983, Panamá, Panamá). IICA. p. 109-127.
- Schuppener, H; Harr, J; Sequeira, F; Gonzales, A. 1977. First occurrence of the coffee leaf rust *Hemileia vastatrix* in Nicaragua, 1976, and its control. Café, Cacao, Thé 3:197-201.
- Segura, B. 2016. Efecto de la sombra en el cultivo del café sobre los procesos de esporulación, la dispersión a través de agua y la deposición, de *Hemileia vastatrix*, en Turrialba, Costa Rica. Thesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE.
- Silva, MC; Nicole, M; Rijo, L; Geiger, JP; Rodrigues, CJ. 1999. Cytochemistry of plant-rust fungus interface during the compatible interaction *Coffea arabica* (cv. Caturra)-*Hemileia vastatrix* (race III). International Journal of Plant Sciences 160:79-91.
- Staver, C; Guharay, F; Monterroso, D; Muschler, RG. 2001. Designing pest-suppressive multistrata perennial crop systems: shade-grown coffee in Central America. Agroforestry Systems 53:151-170.

- Villarreyna, R. 2014. Análisis de las condiciones de manejo que propiciaron el impacto de la roya (*Hemileia vastatrix*) en la zona cafetalera de los municipios de Jinotega, el Tuma-La Dalia y San Ramón, Nicaragua. Thesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 68 p.
- Vieira, A; Talhinhos, P; Loureiro, A; Thürich, J; Duplessis, S; Fernandez, D; Silva, MdC; Paulo, OS; Azinheira, HG. 2012. Expression profiling of genes involved in the biotrophic colonisation of *Coffea arabica* leaves by *Hemileia vastatrix*. Eur J Plant Pathol 133:261–277.
- Zambolim, L; Chaves, G; Do Vale, F; Pereira, A. 1994. Manejo integrado das doenças do cafeeiro em cultivo adensado. In Simposio Internacional sobre café adensado. Londrina, Brasil. ANAIS. p. 151-182.

Artículo I. Efecto de diferentes tipos de manejo de nutrición y sombra sobre la resistencia fisiológica a *Hemileia vastatrix*, mediante inoculaciones en discos de hoja en laboratorio

Resumen

El fuerte impacto de la roya del 2012 obligó a replantearse aspectos de manejo del cultivo de café, entre los que destacan la nutrición y el uso de árboles de sombra. El presente estudio tuvo el objetivo de evaluar el efecto de diferentes tipos de manejo de nutrición y sombra sobre la resistencia fisiológica del café (*Coffea arabica*) a la roya (*Hemileia vastatrix*), mediante inoculaciones de discos de hoja en condiciones controladas de laboratorio. El estudio se desarrolló de marzo de 2016 a noviembre del 2017, en el Centro Agronómico de Investigación y Enseñanza (CATIE). Se desarrollaron tres experimentos (1, 2 y 3). En el 1 y 2 se determinó el efecto de los tratamientos (sombra-nutrición), sobre la composición química del suelo y la hoja y cómo estos influyen sobre los procesos de colonización y esporulación de la roya en dos periodos del año: abril y septiembre. En el experimento 3 (junio), se estudió el efecto de la nutrición en un vivero bajo condiciones controladas. En los experimentos 1 y 2 se encontró que los tratamientos de manejo orgánico presentaron mayor contenido químico de nutrientes en el suelo y foliar, respecto a los convencionales. Se encontró que el contenido de nutrientes químicos a nivel foliar varió en el tiempo. En promedio, en abril se presentó un 12% de mayor contenido de Ca, Mg y K foliar que en septiembre. La composición química de las hojas mostró efectos controversiales sobre el proceso de colonización de la roya; el experimento 1 presentó áreas de lesión en promedio diez veces mayores a las del experimento 2. Se presentaron diferencias en el experimento 1 que no se repitieron en el 2. Hubo aparentes efectos no lineales entre experimentos sobre los efectos del Mn, K y Zn foliares. Además, se encontró una relación congruente entre experimentos (1 y 2) para el P: a mayor contenido foliar, mayor área de lesión. Se presentaron resultados opuestos a lo reportado por la literatura para el contenido de Ca, N foliar y su efecto sobre el área de lesión. En el experimento 3 se presentó una relación no lineal entre el área de lesión y el contenido foliar de Zn, donde entre 22,25 y 36,50 mg/kg se presentaron las menores áreas de lesión. En este experimento no se encontró relación con ninguna otra variable. Los aparentes efectos no lineales de los nutrientes sobre el proceso de colonización muestran la complejidad de las relaciones entre la resistencia fisiológica del hospedero y el patógeno.

La esporulación se observó únicamente en el experimento 1. Se obtuvieron relaciones significativas y positivas con el contenido químico en el suelo de Fe, Cu, K, Zn, acidez y S.A, además de una relación casi significativa y positiva con el N foliar ($p=0,08$), sugiriendo que una buena nutrición de la planta promueve la esporulación.

Palabras clave: Agroforestería, colonización, esporulación, fertilización, nitrógeno, zinc.

Abstract

The strong impact of the rust of 2012 forced to reconsider the aspects of coffee management, including nutrition and the use of shade trees. The objective of this study was to evaluate the effect of different types of coffee nutrition and shade on the physiological resistance of coffee (*Coffea arabica*) to rust (*Hemileia vastatrix*), by inoculating leaf discs under controlled conditions in laboratory. The study was conducted from March 2016 to November 2017, at the Agricultural Research and Higher Education Center (CATIE). Three experiments were developed (1, 2 and 3). In the experiments 1 and 2, we determined the effect of the treatments (shade-nutrition) on the chemical composition of the soil and the leaf and how they influence the processes of colonization and sporulation in two dates: April and September. In cycle 3 (June), the effect of nutrition in a nursery under controlled conditions was studied. In experiments 1 and 2, it was found that organic management led to higher nutrient contents in the soil and leaves, compared with conventional management. It was found that the content of chemical nutrients at leaf level varied over time. On average, in April, a 12% higher Ca, Mg and K foliar content was found compared to September. The chemical composition of the leaves had controversial effects on the process of colonization of the rust; the experiment 1 presented areas of lesion ten times greater than those of experiment 2. Differences observed in experiment 1 that were not observed again in experiment 2. There were apparent nonlinear effects between experiments on the effects of foliar Mn, K and Zn. In addition, a consistent relationship was found between experiments (1 and 2) for foliar P: the higher the content, the larger the injury area. The results are opposite to those reported in the literature for the contents of foliar Ca, N and their effect on the injury area. In the third experiment there was a non-linear relationship between the lesion area and the Zn foliar content, where the smallest lesion areas were observed between 22,25 and 36,50 mg / kg. No relationship was found with any other variable. The apparent non-linear effects of the nutrients on the colonization process show the complexity of the relationships between the physiological resistance of the host and the pathogen.

The sporulation was studied in experiment 1. A significant and positive relationship was obtained with the Fe, Cu, K, Zn soil content, its acidity and SA, in addition to an almost significant and positive relationship with the N leaf content ($p = 0,08$), suggesting that good plant nutrition promotes sporulation.

Keywords: Agroforestry, colonization, sporulation, fertilization, nitrogen, zinc.

1. Introducción

La principal enfermedad del café (*Coffea arabica*) es la roya anaranjada; esta enfermedad es causada por el hongo biótrofo (*Hemileia vastatrix*). En Centroamérica, tras aproximadamente 30 años de convivir con la enfermedad, en el 2012 se reportó la epidemia más severa a la fecha. El ataque se desarrolló de forma inusual e intensa, provocando defoliaciones severas e incluso muerte precoz de ramas. Esto conllevó a pérdida de frutos y cosecha en el mismo año de reportada la epidemia. Aunque la epidemia del 2012 fue generalizada en Centroamérica, se observaron efectos controversiales en el ataque (Avelino y Rivas 2013).

Zambolim *et al.* (1994), mencionan la importancia de integrar diferentes prácticas de manejo para lograr un control adecuado de las enfermedades. Para Agrios (1998), una fertilización balanceada le permite a la planta tener mayor resistencia fisiológica ante patógenos. Este mismo autor menciona que los elementos deben estar en el rango óptimo requerido por la planta ya que de lo contrario, concentraciones mayores o menores pueden propiciar susceptibilidad a enfermedades. Según McMahon (2012), adecuada fertilización fortalece las barreras de las plantas ante las agresiones bióticas como la cera de la cutícula de la hoja, la pared celular y sustancias químicas. En el caso de la roya, Avelino *et al.* (2004), mencionan que el manejo realizado por el productor puede tener un efecto positivo o negativo sobre la incidencia de la enfermedad. Según Avelino *et al.* (1999), prácticas de manejo de nutrición y sombra han sido descritas como factores que afectan el desarrollo de la roya del café. A pesar de que, efectivamente, hay efectos como los citados, estos no se encuentran bien descritos en la literatura.

La nutrición puede aumentar o reducir la resistencia fisiológica de la planta según el tipo de patógeno (Avelino *et al.* 2011). La roya es un patógeno biótrofo, lo que quiere decir que mantiene las células del hospedero vivas y desvía su metabolismo para alimentarse (Mendgen *et al.* 2000). Dordas (2008) y Avelino *et al.* (2011), mencionan que los parásitos biótrofos se favorecen frecuentemente de una adecuada nutrición del hospedero, especialmente nitrogenada. Dordas (2008), menciona cómo la aplicación de fertilizantes puede incidir sobre la resistencia fisiológica de la planta a plagas y enfermedades. Este autor especifica que el efecto de la nutrición puede limitar la penetración, desarrollo y reproducción de los patógenos. Según Villarreyna (2014), prácticas de manejo como fertilización, aplicación de fungicidas y manejo de sombra, entre otras, marcan diferencia en el impacto de la roya en Nicaragua. En Honduras Avelino *et al.* (2006), reportaron que la incidencia de la enfermedad fue menor en parcelas que recibieron fertilización.

Según Ferrandino (2008), la nutrición también puede afectar el desarrollo de las enfermedades a través del crecimiento del hospedero, debido a que un adecuado manejo nutricional se relaciona con un mayor desarrollo foliar de la planta. En Honduras, Lagos (2014), reportó un mayor crecimiento del hospedero a mayor cantidad de P aplicado en el suelo, lo que redujo el impacto de roya. De igual forma López-Bravo *et al.* (2012), comprobaron que la constante incorporación de hojas nuevas produce un efecto de dilución en la incidencia de la roya del café.

En el caso de la sombra, se sabe que afecta el desarrollo de la roya en diferentes vías. Salgado *et al.* (2007), establecieron que tanto el tipo de sombra como su regulación pueden favorecer o perjudicar el desarrollo de la enfermedad. Pico (2014), menciona cómo la sombra tiene efectos opuestos sobre la roya. En este sentido, Brenes (2016) y Segura (2016), establecieron cómo la sombra en época lluviosa favorece la dispersión de las uredosporas, debido a que el agua se acumula en las hojas del árbol de sombra formando gotas gordas de agua, las cuales caen con más fuerza y producen el salpique. Sin embargo, estos mismos

autores establecen que en época seca la sombra disminuye la dispersión de las uredosporas, pues los árboles intersecan las que son transportadas por el viento. López-Bravo *et al.* (2012), mencionan que la sombra genera condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad, específicamente en las fases de germinación y penetración.

La sombra también tiene un efecto regulador sobre la carga fructífera. Morais *et al.* (2006) y López-Bravo *et al.* (2012), establecen que la sombra tiene un efecto regulador sobre la carga fructífera de la planta según la cual, puede aumentar o disminuir su receptividad a la roya. Costa *et al.* (2006) y López-Bravo *et al.* (2012), determinaron que la resistencia fisiológica a la roya es reducida a mayor carga fructífera, debido a que los compuestos fenólicos responsables de la protección de la hoja se re-mobilizan a los frutos en mayor cantidad, cuando la carga fructífera es alta. Lo anterior sugiere que hay factores nutricionales involucrados en la resistencia fisiológica del cafeto a la roya.

La mayoría de los estudios sobre los efectos de la nutrición y la sombra y la resistencia fisiológica del café a la roya, que se han mencionado se han basado en observaciones, revisiones de literatura o encuestas a productores. Por eso se hace necesario realizar investigaciones experimentales. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de diferentes tipos de manejo de nutrición y sombra sobre la resistencia fisiológica del café a la roya mediante inoculaciones de discos de hoja en condiciones controladas de laboratorio.

2. Materiales y métodos

Se desarrollaron tres experimentos para evaluar el efecto de la nutrición y de la sombra sobre la resistencia fisiológica del cafeto a la roya. Los experimentos 1 y 2 se llevaron a cabo en el Ensayo de Sistemas Agroforestales con Café de largo plazo instalado en el CATIE. Los experimentos tienen como base la misma metodología; sin embargo, los resultados se analizaron por separado. El tercer experimento se desarrolló en vivero. Se establecieron dos pruebas: el efecto de la aplicación de la fertilización y de cal por un lado, y el de la aplicación de la fertilización y de composta, por otro lado.

El experimento 1 se desarrolló entre abril y junio, el 3 entre junio y agosto y por último, el 2 entre septiembre y noviembre, todos del 2017.

La metodología de inoculación de discos de hoja con uredosporas de roya es igual para todos los experimentos; la misma se detalla a partir de la sección (2.3).

2.1. Experimentos SAF de café (1 y 2)

2.1.1. Ubicación y descripción general del ensayo SAF de café, CATIE

El SAF de café se encuentra en las coordenadas 9°53'44'' latitud norte y 83°40'7'' longitud oeste, a una elevación de 600 msnm. La temperatura promedio en los últimos 10 años es de 22,4° C, la humedad relativa de 90,6%, la precipitación alcanza 2928mm/año y la radiación solar 16,6 MJ/m². El tipo de suelo se clasifica como aluvial mixto, con textura entre franco y franco-arcilloso (Virginio Filho *et al.* 2002).

El área total del SAF es de 9,2 ha. El ensayo se estableció en el año 2000, con la variedad Caturra, a una densidad de siembra de 5000 plantas/ha, con un distanciamiento de 2 m entre surcos y 1 m entre plantas. Los árboles de sombra presentes son: poró (*Erythrina poeppigiana*), amarillón (*Terminalia amazonia*) y cashá (*Chloroleucon eurycyclum*). Estos árboles generan los tratamientos de sombra, especie por especie y en asociación dos a dos, dando origen a seis tipos de sombra, en contraste con el de pleno sol (Figura 2). Los tratamientos de sombra se cruzaron con cuatro tipos de manejo: alto convencional (AC), medio convencional (MC), medio orgánico (MO) y bajo orgánico (BO). Así, se obtienen 20 tratamientos (28 combinaciones posibles), dispuestos en tres repeticiones (bloques) (Virginio Filho *et al.* 2002 y Hagggar *et*



Figura 2. Ejemplo de parcela con sombra de árboles de cashá con manejo BO en el experimento, SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

al. 2011).

2.1.2. Descripción del manejo de los tratamientos en estudio

Se escogieron 10 de los 20 tratamientos disponibles. En los tratamientos de sombra se seleccionaron las especies poró y cashá, ambas leguminosas. Al poró se le realizan dos podas drásticas al año (febrero y agosto), su densidad de siembra es de 164 árboles/ha. El cashá es un árbol de copa abierta, tiene una altura total entre 22 a 24 m y una altura de copa entre los 13 a 15 m. Su densidad es de 78 árboles/ha.

Para los tratamientos de manejo nutricional se seleccionaron los manejos AC, MC, MO y BO. El manejo AC consiste en la aplicación de 1000 kg/ha de fertilizante la fórmula 18-5-15 y una extra nitrogenada de 300 kg/ha; el MC requiere los mismo insumos pero a la mitad de la dosis. En el manejo MO se aplican 10 ton/ha de gallinaza (2 kg/planta) y en el BO, la mitad de la dosis. En cuanto a la aplicación de fungicidas, en el manejo AC se aplicó cobre a dosis de 1,0 kg/ha, combinado con el producto sistémico Ciproconazol 10% WG a una dosis de 0,4 litros/ha (3-4 aplicaciones/año). El manejo MC utiliza los mismos productos, pero la mitad de aplicaciones. En el manejo MO se aplicó caldo bordelés (cobre metálico 20%, calcio 10%) a una dosis de 1,5 kg/ha; en el BO no se realizan aplicaciones para el control de plagas y enfermedades. Para todas las aplicaciones de fungicidas se utilizó un volumen de 400 litros/ha (Figura 3).

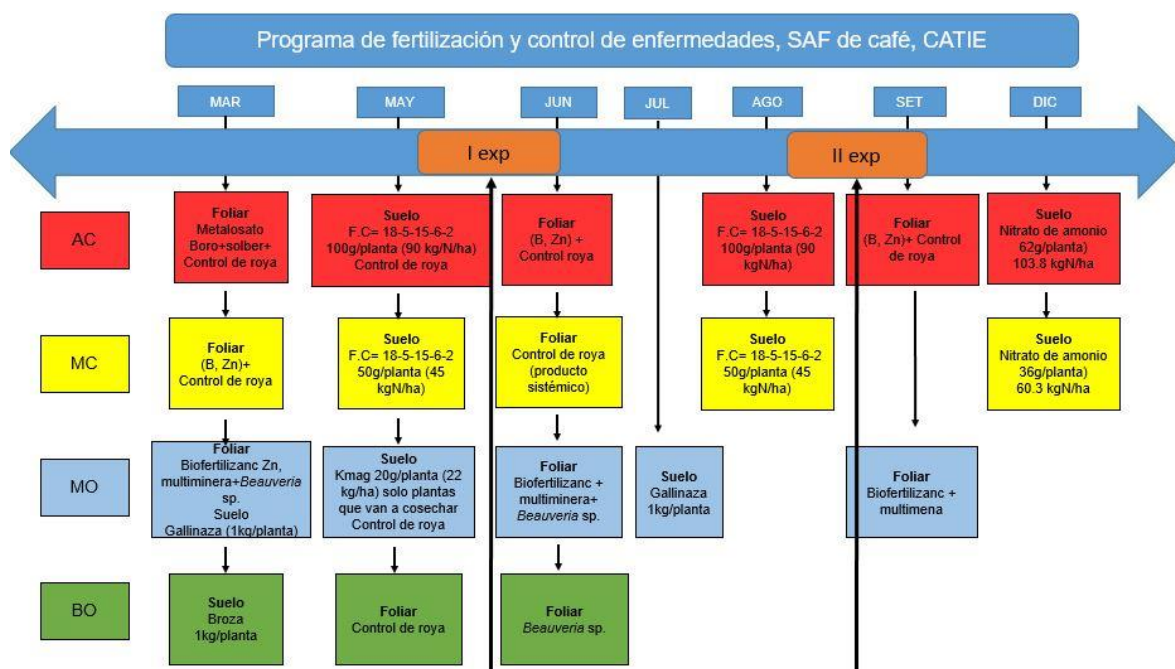


Figura 3. Programa de manejo agronómico para los tratamientos en estudio y las respectivas fechas de muestreos de los experimentos 1 y 2, SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

2.1.3. Diseño experimental

Este experimento tiene una estructura bi-factorial 3×4 incompleta, es decir (Cuadro 3):

- Sombra, medido en 3 niveles: sombra de poró (Poró), sombra de Poró + cashá (Poró.cashá) y pleno sol (Psol).
- Manejo nutricional, medido en 4 niveles: alto convencional (AC), medio convencional (MC), medio orgánico (MO) y bajo orgánico (BO).

Cuadro 3. Tratamientos de manejo de nutrición y sombra en los experimentos 1 y 2, SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Sombra	x	Manejo	=	Sombra x Manejo
Poro	→	AC	→	Poro.AC
		MC	→	Poro.MC
		MO	→	Poro.MO
		BO	→	Poro.BO
Poro.cashá	→	AC	→	Poro.casha.AC
		MC	→	Poro.casha.MC
		MO	→	Poro.casha.MO
		BO	→	Poro.casha.BO
Psol	→	AC	→	Psol.AC
		MC	→	Psol.MC

2.1.4. Marcado de plantas en las parcelas en estudio

Se seleccionaron e identificaron nueve plantas entre 3-4 años de desarrollo, con una distribución sistemática en cada parcela experimental para contemplar la variabilidad según el tipo de sombra. El área de la parcela fue de 48 m² aproximadamente (6 m ancho x 8 m largo) (Figura 4).

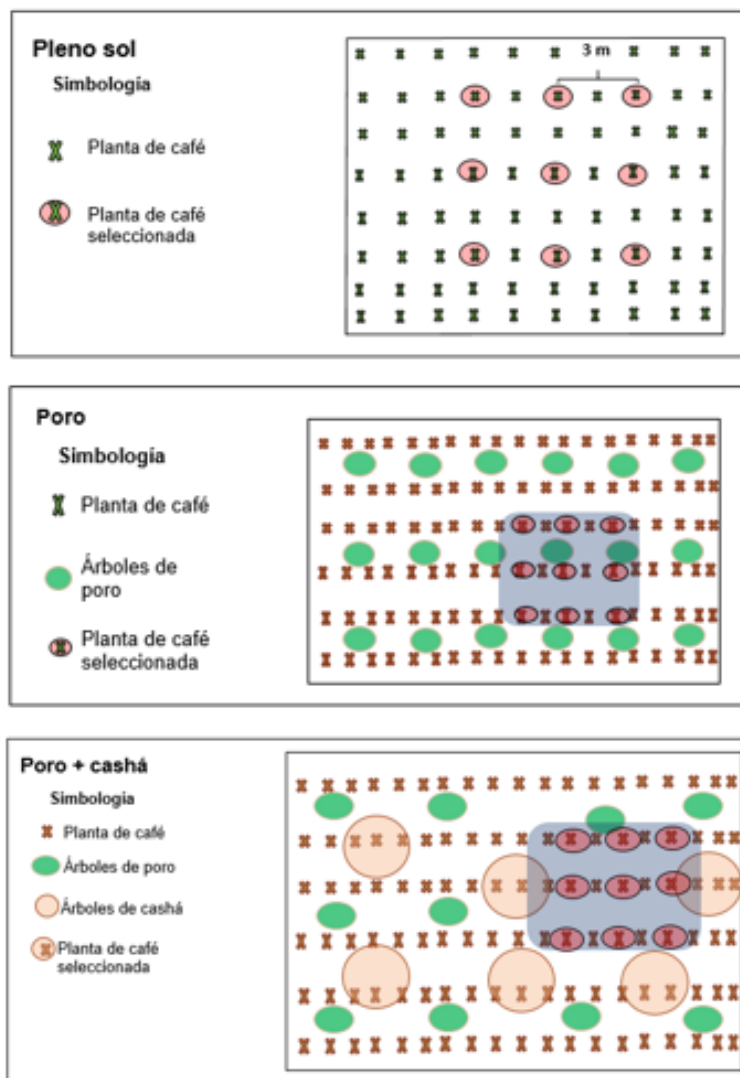


Figura 4. Plantas marcadas en las parcelas para cada tratamiento en el SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

2.1.5. Metodología de muestreo foliar y suelos

2.1.5.1. Muestreo foliar

El muestreo foliar del experimento 1 se realizó el 21 de abril y el foliar del experimento 2 el 7 de agosto. De cada planta identificada (1-9) por parcela, se seleccionó una bandola del tercio superior y se le colectó el antepenúltimo par de hojas. La bandola se marcó y utilizó como muestreo en ambos experimentos (Figura 5). Una vez colectadas las hojas se llevaron al laboratorio de Fitoprotección del CATIE, donde se conformó para cada parcela una muestra foliar (18 hojas por parcela), y se analizó el contenido químico de Ca, Mg, K, P, Cu, Mn, Zn, Fe y N. De esta forma se logró determinar el contenido de los nutrientes en la hoja al momento de la inoculación. En total se realizaron 60 análisis (30 por experimento).



Figura 5. Hojas muestreadas de café provenientes del antepenúltimo nudo de la bandola y del tercio superior de la planta, para corte de los discos y conformación de la muestra foliar

2.1.5.2. Muestreo de suelo

Para los experimentos 1 y 2 se realizó un análisis de suelo el 16 de mayo. De las plantas identificadas por parcela (mismas muestreadas para el análisis foliar), se seleccionaron aleatoriamente tres. En cada planta, a una distancia de entre 30 y 40 cm del tronco y a 30 cm de profundidad, se extrajo una submuestra de suelo con barreno holandés. Las tres submuestras se mezclaron y se conformó una muestra representativa por parcela. El análisis químico completo contempló el pH, acidez, Ca, Mg, K, P, Cu, Zn, Mn, Fe; se obtuvieron 30 análisis en total.

2.2. Experimento de vivero (3)

2.2.1. Ubicación y descripción del área de estudio

El vivero utilizado pertenece al Banco de Semillas del CATIE. Los experimentos fertilización-cal y fertilización-composta se establecieron juntos en camas metálicas (Figura 6) y se diferenciaron únicamente



Figura 6 Plantías de café establecidas por parcela, para cada tratamiento

a nivel de análisis de resultados. Se establecieron 6 repeticiones por tratamiento para cada experimento con plantías de café; cada repetición constó de 10 plantías. Por tanto, en total se sembraron 720 plantías.

2.2.2. Descripción del manejo de las plantías

Para este experimento el semillero de café se puso a germinar el 13 de junio; las plantías se trasplantaron a las bolsas de polietileno el 26 de septiembre del 2016. Se realizaron entre 3-4 riegos/semana. Para el control de enfermedades como antracnosis (*Colletotrichum coffeanum*), ojo de gallo (*Mycena citricolor*) y cercospora (*Cercospora coffeicola*), se aplicó de forma preventiva, Amistar 50 WG (*metaxiacrilato azoxystrobin*) dos veces en el ciclo. Las aplicaciones se suspendieron 60 días antes de la inoculación. Las bolsas de polietileno tenían un peso de 2,6 kg, el suelo perteneciente al orden Ultisol, con una textura franco-arcillosa, baja capacidad de intercambio catiónico y alto contenido de Fe y Al (Anexo 1).

2.2.3. Descripción de los factores y tratamientos: fertilización, cal y composta

2.2.3.1. Enmienda calcárea

Se establecieron cuatro tratamientos, equivalentes a la aplicación de 0, 3, 8 y 20 ton/ha de enmienda calcárea. El testigo consta de la no aplicación de cal (0 ton/ha). El tratamiento de 3 ton/ha de CaCO_3 se calculó en base al análisis de suelos, utilizando la fórmula de Van Jaaj modificada (1991). Los tratamientos de 8 ton/ha y 20 ton/ha se establecieron para determinar si existe un efecto de la sobredosificación por CaCO_3 , debido a que la disponibilidad de nutrientes varía según el pH del suelo y esto podría afectar la resistencia fisiológica de la planta a la roya.

Se utilizó carbonato de calcio como enmienda, con una pureza de 98,5%, un equivalente químico de 99,4% y PRNT (poder relativo de neutralización total) de 98,87%.

Fórmula:

$$\text{ton} \frac{\text{CaCO}_3}{\text{ha}} = \frac{1,5^1 \times (\text{Al}^2 - \text{RAS}^3) \times (\text{CICE})}{100} \times f$$

Donde:

$\text{Al} = (\text{acidez/CICE}) \times 100$

$\text{CICE} = \text{acidez} + \text{Ca} + \text{Mg} + \text{K}$

$\text{RAS} = 15\%$

$f = (100/\text{PRNT})$

$\text{PRNT} = ((\text{eficiencia granulométrica} (\%) \times \text{eficiencia química} (\%)) / 100)$

2.2.3.2. Composta

Se establecieron 3 tratamientos. Para dar origen a los mismos, se mezcló la composta con suelo (0, 15 y 30% de composta en mezcla). Las dosis se definieron según parámetros encontrados en la literatura desde un 25% hasta 50% de compost en mezcla con el suelo (ICAFE 2014). Al mismo tiempo, tener un tratamiento al doble de cantidad sobre el otro, permitió estimar si existía alguna diferencia en la respuesta de la resistencia fisiológica de la planta.

¹Constante para corregir el Al no intercambiable que no es determinado por el KCl

²Saturación de acidez existente en el suelo en porcentaje

³Saturación de acidez deseada en porcentaje (15%)

La composta la elaboró Coopetarrazú R.L, a base de broza de café; su composición química es N (0,31%), P₂O₅ (0,13%), K₂O (0,32%), Mg (0,26%), Ca (0,27%), Fe (0,10%) y materia orgánica (47,03%).

2.2.3.3. Fertilizante

Se establecieron dos tratamientos (dosis completa y media de fertilización). La dosis completa se estableció según recomendaciones del ICAFE (2014), y consistió en la aplicación de 2 g/plantía de fertilizante; el tratamiento de media dosis corresponde a la mitad de la aplicación (fórmula física: 12-11-18-3-0,15 (B)-8 (S)-0,02 (Zn). Este tratamiento se estableció para estimar si existía alguna diferencia en la respuesta de la planta a la resistencia fisiológica. Se realizaron 9 aplicaciones, distribuidas cada 22 días.

2.2.4. Diseño experimental: fertilización-cal y fertilización-composta

2.2.4.1. Experimento fertilización-cal

Tiene una estructura bi-factorial 4x2 completa, es decir (Cuadro 4):

- Cal medido en 4 niveles: cero cal (Ca0), equivalente a 3 ton CaCO₃ (Ca3), 8 ton CaCO₃ (Ca8) y 20 ton CaCO₃/ha (Ca20).
- Fertilización medida en 2 niveles, media dosis recomendada (Fe.M) y dosis recomendada (Fe.C).

Cuadro 4. Tratamientos del experimento fertilización por cal en sus dosis respectivas aplicados en el ensayo de vivero, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Tratamiento	Dosis de fertilizante (g/plantía)	Dosis de cal (g/plantía)
FeM:Ca0	9	0
FeC:Ca0	18	0
FeM:Ca3	9	3,83
FeC:Ca3	18	3,83
FeM:Ca8	9	14,40
FeC:Ca8	18	14,40
FeM:Ca20	9	36,00
FeC:Ca20	18	36,00

2.2.4.2. Experimento fertilización-composta

La estructura es bi-factorial completa 3x2, es decir (Cuadro 5):

- Composta medido en 3 niveles: cero composta (Co0), 15% de composta (Co15) y 30% de composta (Co30).
- Fertilización medida en 2 niveles: media dosis recomendada (FeM) y dosis recomendada (FeC).

Cuadro 5. Tratamientos experimento fertilización-composta en sus dosis respectivas aplicadas en el ensayo de vivero, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Tratamiento	Dosis de fertilizante (g/plantía)	Dosis de composta (g/plantía)
FeM:Co0	9	0
FeC:Co15	18	390
FeM:Co30	9	780
FeC:Co0	18	0
FeM:Co15	9	390
FeC:Co30	18	780

2.2.5. Metodología de muestreo foliar por parcela

El muestreo foliar se realizó el 26 de junio de 2017, ya que las plantías habían alcanzado el crecimiento necesario para conformar la muestra foliar requerida para el análisis químico completo. Se seleccionaron tres de las seis parcelas por tratamiento para contemplar las tres repeticiones necesarias para el análisis estadístico. De cada parcela se colectó, aleatoriamente, 12 hojas textura terciopelo ubicadas en el tercio superior de cada plantía (Figura 7). Se conformó una muestra por repetición (12 hojas) para realizar el análisis químico foliar (mismo que los experimentos 1 y 2). Se obtuvieron 36 análisis en total.



Figura 7. Par de hojas textura terciopelo colectado aleatoriamente muestreadas para el análisis químico completo, invernadero del Banco de Semillas, CATIE, Turrialba, Costa Rica

2.3. Metodología de inoculación de discos de hoja para los experimentos 1, 2 y 3

Se utilizó la metodología de inoculación de discos de hoja con uredosporas de roya establecida por Eskes (1982), modificada por Granados (2014). Los discos de hoja se obtuvieron de las hojas colectadas para los análisis foliares, lo cual permitió conocer el contenido de nutrientes foliares al momento de realizar la inoculación, la cual se llevó a cabo en el laboratorio de Fitoprotección. Posteriormente se midió, sobre los discos de hoja, las variables de crecimiento que presentó la roya (Sección 2.4.3).

2.3.1. Tamaño de muestra-discos de hoja para los experimentos

Para el experimento 1 y 2, del par de hojas colectado por planta (Sección 2.1.5.1), se cortó un disco. Por lo tanto, se obtuvieron 54 discos por tratamiento (18 hojas x 3 bloques) y 540 discos (10 tratamientos) en total.

Para el experimento 3, del par de hojas colectado por planta (Sección 2.2.5), se cortó un disco, lo cual quiere decir que se obtuvieron 36 discos de hoja por tratamiento (12 hojas x 3 repeticiones) y 480 discos (12 tratamientos) en total.

2.3.2. Desinfección de las hojas

Para eliminar cualquier agente patógeno de las hojas se desinfectaron sumergiéndolas durante 45 segundos en hipoclorito de sodio al 0,5%; luego se lavaron en agua destilada tres veces para eliminar los residuos (Gilchrist-Saavedra *et al.* 1995).

2.3.3. Corte de los discos

Para realizar el corte se utilizó un saca bocados de 2,15 cm de diámetro. Durante el corte se evitó girar el saca bocados o cortar discos con nervaduras centrales, ya que no contienen estomas (punto de ingreso de la roya) (Eskes 1982). Una vez cortados los discos de hoja, se colocaron con una pinza en las cámaras húmedas dentro de bolsas *ziploc*, con el fin de conservar altas condiciones de humedad relativa.

2.3.4. Cámara húmeda

Las cámaras húmedas están compuestas por seis subcámaras circulares de 2,5 cm de diámetro (Figura 8). En cada una se depositaron 7 ml de agua destilada estéril, luego se colocó un círculo de *foam* de 2,0 cm de diámetro y sobre este se colocó el disco de hoja. La cámara húmeda se monitoreó una vez a la semana para verificar el nivel agua (Eskes 1982).

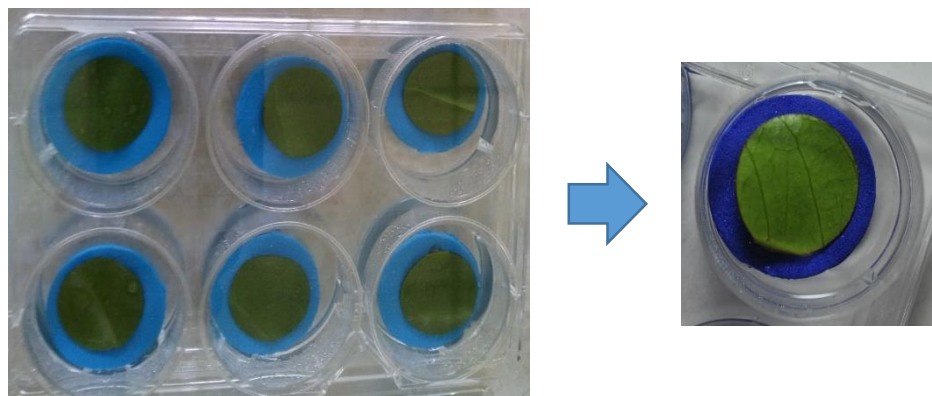


Figura 8. Cámara húmeda para conservar los discos de hoja inoculados con uredosporas de roya de café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica

2.3.5. Inoculación del disco de hoja

Al momento de la inoculación se utilizó una concentración de 0,5 mg/uredosporas por ml de agua destilada al *Twin* 0,1%. Se determinó bajo las condiciones del estudio, una concentración de $1,55 \times 10^5$ /mg de uredosporas. En el centro de cada disco de hoja se depositó una gota de 25 μ l que contenía 1875 uredosporas. Antes de depositar la gota se realizó un conteo para poder hacer el ajuste hasta la concentración deseada; el porcentaje promedio de germinación fue de 35%. Las cámaras húmedas con los discos dentro, se colocaron en una cámara fría por 20 horas en oscuridad a una temperatura de 22,5 °C (\pm 2°C) y una humedad relativa del 100%. Transcurrido este período se sacaron las cámaras húmedas y se dejó secar la gota (durante 2-3 horas). Una vez seca la gota, se reguló la cámara fría a un fotoperiodo de 12 horas luz y 12 horas oscuridad, temperatura de 22,5°C y humedad relativa de 100% Eskes (1982) y Granados (2014).



Figura 9. Discos de hoja inoculados con uredosporas de roya de café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica

2.4. Variables en estudio experimentos 1, 2 y 3

2.4.1. Variables químicas foliares

En el análisis foliar se determinó el contenido químico de Ca, Mg, K, P, N, Cu, Zn, Mn, Fe (Cuadro 6). El laboratorio utilizó el método de análisis de determinación por absorción atómica para Ca, Mg, K, Cu, Zn, Mn, Fe. Para el P el método colorimétrico del extracto de digestión y para el N el método de combustión total. En el Cuadro 7 se presentan los rangos óptimos para el cultivo del café a nivel foliar.

Cuadro 6. Variables foliares del contenido de nutrientes y su respectiva unidad de medida utilizados en el análisis químico foliar de hojas de café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Elemento	Unidad
Ca	%
Mg	%
K	%
P	%
N	%
Cu	mg/kg
Zn	mg/kg
Mn	mg/kg
Fe	mg/kg

Cuadro 7. Rangos óptimos del contenido químico de nutrientes a nivel foliar para el cultivo del café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica

N	P	K	Ca	Mg	Cu	Fe	Mn	Zn
%					mg/kg			
2,6-3,20	0,12-0,20	1,50-2,50	0,90-1,50	0,25-0,40	10-20	90-150	100-200	13-20

Fuente: ICAFE (2014).

2.4.2. Variables químicas de suelo

Se determinó el contenido químico en el suelo del pH, acidez, Ca, Mg, K, P, Cu, Zn, Mn, Fe, SA, CICE (Cuadro 8). El laboratorio utilizó el método de análisis por extracción en Olsen Modificado pH 8,5, para la determinación de Cu, Zn, Mn, Fe, K y P y una extracción en cloruro de potasio 1N para la determinación de Ca, Mg y acidez intercambiable. En el Cuadro 9 se presentan los rangos óptimos para el cultivo del café a nivel de suelo.

Cuadro 8. Variables de suelo del contenido de nutrientes y su respectiva unidad de medida, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Elemento	Unidad
pH	H ₂ O
Acidez	cmol./l
Ca	cmol./l
Mg	cmol./l
K	cmol./l
P	mg/l
Cu	cmol./l
Zn	mg/l
Mn	mg/l
Fe	mg/l
S.A	%
C.I.C.E.	cmol/

S.A= (acidez extraíble X 100)/(Ca+Mg+K+acidez extraíble)

CICE= (Ca + Mg + K + acidez extraíble)

Cuadro 9. Rangos óptimos del contenido químico de nutrientes en el suelo para el cultivo del café, laboratorio de fitopatología, CATIE, Turrialba, Costa Rica

pH	Acidez	Ca	Mg	K	P	Cu	Zn	Mn	Fe	S.A	CICE
H ₂ O			cmol(+)/l				mg/l			%	cmol(+)/l
5,0-6,0	0,5-1,0	3,0-8,0	0,81-2,00	0,20-0,80	10,0-20,0	2,0-20,0	2,0-10,0	5,0-50,0	10-100	20-40	5-25

%SA= (acidez extraíble X 100)/(Ca+Mg+K+acidez extraíble)

CICE= (Ca + Mg + K + acidez extraíble)

Fuente: ICAFE (2014)

2.4.3. Variables medidas sobre los discos de hoja

2.4.3.1. Área de lesión (AL)

El AL se midió a partir de los primeros síntomas de lesión. Se tomaron fotografías de cada disco, cada dos días y mediante el *software* Image J 3.0 se calculó el área en (cm²/disco de hoja).

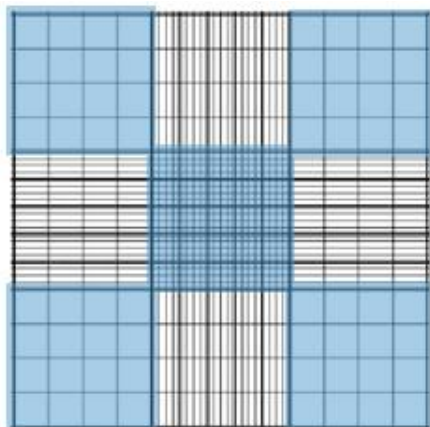
2.4.3.2. Área esporulada (AE)

Después de presentarse el AL, se esperó a observar al ojo, agrupamientos de uredosporas. En este momento se midió el AL en cada disco de hoja. El AE se determinó en cm^2/disco de hoja mediante el *software* Image J 3.0.

2.4.3.3. Cantidad de uredosporas por disco (conteo de uredosporas)

Trascurridos diez días desde la presentación del AE, se rasparon los discos de hoja. Las uredosporas se depositaron en una cápsula de gelatina con 1 ml de Twin 20 al 2,5%, identificada. Se procedió a determinar la cantidad de uredosporas/disco mediante un conteo en la cámara Neubauer, mediante la metodología establecida por Rudy *et al.* (2011) (Cuadro 10).

Cuadro 10. Cuadrícula de la cámara de Neubauer constituida por nueve cuadros grandes, cada uno de una superficie de 1 mm^2 y 0,1 mm de profundidad.



2.4.3.4. Intensidad de esporulación

Se calculó mediante la división del conteo de uredosporas/disco y el AE al momento de realizar el raspado.

Fórmula:

$$\frac{\text{Conteo de uredosporas}}{\text{AE } (\text{cm}^2)}$$

2.5. Métodos estadísticos

2.5.1. Análisis descriptivos de los factores químicos foliares y de suelo de los diferentes experimentos

2.5.1.1. Experimento 1 y 2 y del sistema agroforestal de café

Se realizó un análisis de la varianza (ANOVA), para evaluar diferencias entre los experimentos en cuanto a factores de sombra y manejo para las diferentes variables foliares y de suelo.

Para describir la correlación entre las variables del análisis foliar y del análisis de suelo, se realizó un análisis de mínimos cuadrados (PLS), para los experimento 1 y 2. Se declararon las variables foliares como dependientes y las del suelo como independientes. Se utilizó el análisis PLS ya que permite pasar de un gran número de variables dependientes y correlacionadas entre sí, a un número menor de variables independientes y no correlacionadas. La combinación lineal de la relación entre las variables foliares y de suelo son llamadas variables latentes, que se utilizaron en análisis posteriores.

2.5.1.2. Experimento 3: vivero

Por separado (fertilización-cal y fertilización-compost), se realizó un análisis de la varianza para evaluar si existen diferencias entre los tratamientos según las variables foliares. Para este experimento se realizó un análisis de componentes principales (ACP), en lugar de un PLS con el fin de evaluar la correlación entre los factores foliares (llamados componentes), los cuales son utilizados en análisis posteriores.

2.5.2. Evaluación del efecto de la resistencia fisiológica sobre los procesos de colonización y esporulación de la roya sobre discos de hoja de café, experimentos 1, 2 y 3

Esta evaluación se hizo para evaluar el efecto del manejo (nutrición y sombra), sobre el área de lesión y su progreso en el tiempo para cada uno de los experimentos (1 y 2). Se realizó un análisis de covarianza utilizando modelos lineales mixtos; los factores de interés fueron los tratamientos (producto de la combinación del manejo de nutrición y sombra), el tiempo, variables latente 1, latente 2 y latente 3 que contienen la información de las variables químicas foliares y de suelo. Dado que el diseño contempla correlación entre las observaciones a nivel espacial y temporal (los tratamientos dentro de los bloques) y temporal (el seguimiento del crecimiento del AL), se contempló como efecto aleatorio al bloque y dentro del bloque, los tratamientos (estructura de correlación de simetría compuesta).

Dado que muchos discos en el experimento 1 fueron necrosados, no fueron considerados en el análisis.

Para el experimento 3 se ajustó el modelo de análisis de covarianza con efectos aleatorios para evaluar el efecto fertilización-cal y fertilización-composta.

Para todos los experimentos, en los modelos se trabajó con el promedio de AL por bloque, tratamiento y tiempo. Además, los modelos contemplaron varianzas heterogéneas para los tratamientos.

Para evaluar la producción de esporas según el área de esporulación y los tratamientos (solamente en el experimento 1 se realizó conteo de uredosporas), se calculó un modelo generalizado mixto (análisis de covarianza), con distribución binomial negativa. Se declaró AE, tratamiento y su interacción como variables independientes y conteo de uredosporas como variable dependiente.

Solo en el experimento 3, para evaluar la intensidad de esporulación según el área de esporulación, los tratamientos y las variables latentes, se realizó un modelo generalizado mixto con función de distribución binomial negativa para contemplar la sobredispersión de los conteos de uredosporas. Las variables predictoras fueron latente 2 (única latente que presentó diferencias) y tratamientos; el AE se declaró como *of-set* (estandarización externa sobre el AE), y como efecto aleatorio bloque y tratamiento dentro de bloque.

3. Resultados

3.1. Descriptores de los discos de hoja inoculados: experimentos 1, 2 y 3

Durante el desarrollo de los experimentos se presentaron problemas de necrosis sobre los discos de hoja, los cuales fueron en aumento a través del tiempo. Al inicio (después de la inoculación de roya), la necrosis no superó el 10%; sin embargo, al final del proceso de observación en algunos tratamientos sobrepasó el 50%. En los cuadros 11, 12, 13, 14, 15 y 16, se detalla el número de discos utilizados para los análisis estadísticos por experimento, valores promedios, desviación estándar (D.E.), mín y máx para las variables AL, AE y conteo de uredosporas.

En el experimento 1 se midió la variable AL hasta el día 27, dado que se presentaron problemas de necrosis en los discos. Por esta razón se eliminó el tratamiento Poró.BO. En el experimento 2 se tomaron mediciones del AL hasta el día 35 y en el 3 al día 31. Las variables AE y conteo de uredosporas se estimaron para el experimento 1 (cuadros 15 y 16).

Cuadro 11. Experimento 1, discos de hoja de café utilizados para la medición del área de lesión por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Experimento	Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
1	Poró.AC	AL	33	0,30	0,12	0,04	0,71
1	Poró.BO	AL	1	0,43	0,00	0,43	0,43
1	Poró.casha.AC	AL	35	0,22	0,09	0,08	0,44
1	Poró.casha.BO	AL	24	0,28	0,11	0,09	0,47
1	Poró.casha.MC	AL	26	0,22	0,11	0,06	0,43
1	Poró.casha.MO	AL	28	0,33	0,16	0,03	0,72
1	Poró.MC	AL	10	0,30	0,06	0,15	0,37
1	Poró.MO	AL	13	0,36	0,15	0,01	0,66
1	Psol.AC	AL	24	0,35	0,09	0,14	0,51
1	Psol.MC	AL	42	0,32	0,12	0,04	0,71

Cuadro 12. Experimento 2, discos de hoja de café utilizados para la medición del área de lesión por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Experimento	Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
2	Poró.AC	AL	23	0,010	0,004	0,010	0,020
2	Poró.BO	AL	19	0,010	0,020	0,010	0,080
2	Poró.casha.AC	AL	14	0,010	0,003	0,010	0,020
2	Poró.casha.BO	AL	7	0,020	0,020	0,003	0,050
2	Poró.casha.MC	AL	7	0,010	0,010	0,002	0,020
2	Poró.casha.MO	AL	3	0,030	0,020	0,010	0,040
2	Poró.MC	AL	6	0,010	0,010	0,010	0,030
2	Poró.MO	AL	21	0,010	0,002	0,010	0,010
2	Psol.AC	AL	7	0,010	0,010	0,010	0,020
2	Psol.MC	AL	3	0,030	0,030	0,010	0,060

Cuadro 13. Experimento 3, (fertilización-cal) discos de hoja de café utilizados para la medición del área de lesión por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Experimento	Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
3	FeC:Ca0	AL	18	0,02	0,02	0,002	0,07
3	FeC:Ca20	AL	20	0,01	0,01	0,002	0,03
3	FeC:Ca3	AL	19	0,02	0,02	0,001	0,07
3	FeC:Ca8	AL	13	0,02	0,01	0,010	0,04
3	FeM:Ca0	AL	6	0,02	0,01	0,010	0,04

3	FeM:Ca20	AL	7	0,02	0,01	0,010	0,04
3	FeM:Ca3	AL	25	0,04	0,04	0,010	0,17
3	FeM:Ca8	AL	12	0,02	0,02	0,010	0,07

Cuadro 14. Experimento 3, (fertilización-composta) discos de hoja de café utilizados para la medición del área de lesión por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Experimento	Tratamiento	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
3	FeC:Ca0	AL	18	0,02	0,02	0,002	0,07
3	FeC:Co15	AL	20	0,04	0,04	0,01	0,17
3	FeC:Co30	AL	9	0,02	0,02	0,003	0,05
3	FeM:Ca0	AL	6	0,02	0,01	0,01	0,04
3	FeM:Co15	AL	14	0,05	0,06	0,001	0,18
3	FeM:Co30	AL	14	0,02	0,01	0,01	0,05

Cuadro 15. Experimento 1, discos de hoja de café utilizados para la medición del área esporulada por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Tratamiento	Variable	n	Media	Mín	Máx
Poró.AC	AE	14	0,18	0,03	0,31
Poró.casha.AC	AE	16	0,12	0,04	0,35
Poró.casha.BO	AE	10	0,20	0,08	0,44
Poró.casha.MC	AE	2	0,13	0,11	0,16
Poró.casha.MO	AE	6	0,13	0,06	0,25
Poró.MC	AE	6	0,21	0,12	0,30
Psol.AC	AE	11	0,16	0,01	0,42
Psol.MC	AE	6	0,26	0,02	0,43

Cuadro 16. Experimento 1, discos de hoja de café utilizados para la medición del conteo de uredosporas por tratamiento, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Tratamiento	Variable	n	Media	Mín	Máx
Poró.AC	Conteo	14	21246,43	1110,00	44400,00
Poró.casha.AC	Conteo	16	10005,88	1004,00	29400,00
Poró.casha.BO	Conteo	10	10684,00	1110,00	27800,00
Poró.casha.MC	Conteo	2	6539,00	278,00	12800,00
Poró.casha.MO	Conteo	6	9638,33	1110,00	22800,00
Poró.MC	Conteo	6	19500,00	10300,00	38900,00
Psol.AC	Conteo	11	9874,55	1110,00	23900,00
Psol.MC	Conteo	6	3932,00	500,00	15800,00

3.2. Efecto de los diferentes tipos de manejo de sombra y nutrición sobre la composición química de la hoja de café y suelo

3.2.1. Comparación entre sombra-manejo nutricional según las variables de suelo

No se encontró evidencia de una interacción entre los factores de S×M. Se encontraron diferencias para el factor de manejo nutricional para las variables pH, acidez, Ca, Mg, SA y CICE, mientras que para el factor de sombra se presentaron diferencias en las variables acidez, K y S.A (Cuadro 17).

Cuadro 17. Prueba de significancia para las variables de suelo según los factores de sombra, manejo nutricional y su interacción en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Elemento	Unidad	S ⁴	M ⁵	S×M ⁶
pH	H ₂ O	0,1234	0,0001	0,4870
Acidez	cmol./L	0,0028	<0,0001	0,0776
Ca	cmol./L	0,0127	<0,0001	0,2128
Mg	cmol./L	0,0482	0,0005	0,4488
K	cmol./L	0,0014	0,0261	0,4328
P	mg/L	0,4400	0,0887	0,1619
Cu	cmol./L	0,1557	0,9961	0,9987
Zn	mg/L	0,1997	0,2674	0,7606
Mn	mg/L	0,3859	0,0976	0,1641
Fe	mg/L	0,0811	0,0342	0,5696
S.A	%	0,0016	<0,0001	0,0485
C.I.C.E.	cmol./L	0,1218	0,0041	0,5343

Análisis de la varianza (ANOVA) para evaluar diferencias entre los contenidos químicos de las variables de suelo y los factores de sombra, manejo y su interacción. Valores en negrita corresponden a valores significativos ($p \leq 0,01$).

El Cuadro 18 muestra las diferencias en la composición química del suelo debido al efecto de los tratamientos sombra y nutrición. Como se puede observar, a mayor cantidad de sombra disminuye la acidez, caso inverso a lo presentado para el contenido de K. Además, los tratamientos de manejo nutricional orgánicos (MO y BO), presentan mayor contenido de bases y mayor pH, mientras que los tratamientos convencionales tienen menor contenido de bases y menor pH.

Cuadro 18. Medias ajustadas para las interacciones simples significativas en los contenidos de nutrientes del suelo en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Elemento	Sombra			Manejo nutricional			
	Poró	Poró.cashá	Psol	AC	MC	MO	BO
pH				4,64±0,10A	4,79±0,10A	5,52±0,13B	5,33±0,13B
Acidez	2,05±0,22AB	1,38±0,22A	2,90±0,31B	3,55±0,26C	2,31±0,26B	0,26±0,31A	0,73±0,31A
Ca				2,37±0,46A	3,22±0,46A	7,44±0,56B	6,31±0,56B
Mg				0,76±0,10A	1,01±0,10AB	1,59±0,13C	1,45±0,13BC
K	0,44±0,03B	0,37±0,03B	0,23±0,04 ^a				
S.A	28,34±3,20AB	19,69±3,20A	43,31±4,53B	50,64±3,70C	34,45±3,70B	2,73±4,53A	8,98± 4,53 A
CICE				7,00±0,47A	6,83±0,47A	9,81±0,58B	8,88±0,58AB

Análisis ANOVA, valores en negrita significan contenidos mayores de nutrientes o más cercanos a los rangos óptimos para el cultivo del café, a nivel de suelo (Cuadro 7). Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,01$).

3.2.2. Comparación entre sombra-manejo según las variables foliares

Los experimentos 1 y 2 se analizaron en conjunto. Se encontraron diferencias en el contenido de nutrientes debido al efecto de los tratamientos. No se presentaron interacciones triples, pero sí dobles para N y Zn. Los tratamientos de sombra presentaron diferencias para Mg, K, P, Mn y Fe mientras que los tratamientos de manejo nutricional en Ca, K, P y Mn (Cuadro 19).

Cuadro 19. Prueba de significancia para las variables foliares según los factores sombra, manejo nutricional, experimento y sus interacciones en ensayos de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

⁴ Sombra

⁵ Manejo nutricional

⁶ Sombra × manejo nutricional

Elemento	Exp ⁷	S	M	Exp×S ⁸	Exp×M ⁹	S×M	Exp×S×M ¹⁰
Ca	<0,0001	0,0057	<0,0001	0,4022	0,7520	0,9697	0,7316
Mg	<0,0001	<0,0001	0,2215	0,7682	0,0502	0,5693	0,8933
K	<0,0001	<0,0001	0,0017	0,0281	0,1297	0,1051	0,3803
P	0,0724	0,0004	<0,0001	0,0983	0,0240	0,3202	0,3400
N	<0,0001	0,0083	0,0102	0,0134	0,0001	0,6482	0,7905
Cu	0,5042	0,4087	0,2069	0,4271	0,3848	0,2829	0,4962
Zn	0,0177	0,8970	0,2014	0,0048	0,0540	0,4087	0,4929
Mn	0,0459	<0,0001	<0,0001	0,2441	0,2951	0,0260	0,2177
Fe	0,8140	0,0040	0,8086	0,8753	0,3533	0,1756	0,0139

Análisis (ANOVA) para evaluar diferencias entre los contenidos químicos de las variables foliares, experimentos 1 y 2. Valores en negrita corresponden a valores significativos ($p \leq 0,01$).

El tiempo de muestreo influye sobre el contenido de nutrientes en la hoja. Esto se puede observar en el experimento 1, el cual presenta mayor contenido de bases que el 2. Los tratamientos de sombra Poró y Psol son similares en su composición química; Poró.cashá tiene menor contenido de Ca, Mg, Mn, Fe y mayor de K, P. Existe mayor contenido de bases en el manejo MO, mientras los mayores contenidos de Mn se presentan en la sombra Psol con manejo AC (Cuadro 20).

Cuadro 20. Medias ajustadas para las interacciones simples significativas en los contenidos de nutrientes foliares en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Elemento	Exp		Sombra			Manejo			
	1	2	Poró	Poró.cashá	Psol	AC	MC	MO	BO
Ca	0,78±	0,67±				0,67±	0,69±	0,86±	0,74±
	0,02B	0,02A	0,77±0,02B	0,68±0,02A	0,73±0,03AB	0,02A	0,02AB	0,03C	0,03B
	0,30±	0,26±							
Mg	0,0041B	0,0041A	0,29±0,0046B	0,26±0,0046A	0,32±0,01C				
	2,82±	2,50±				2,54±	2,57±	2,90±	2,73±
K	0,03B	0,03A	2,63±0,04B	2,83±0,04C	2,38±0,03A	0,04A	0,04A	0,05C	0,05B
						0,15±	0,16±	0,19±	0,19
P			0,17±0,0027B	0,18±0,0027C	0,16±0,0038A	0,0031A	0,0031B	0,0038C	0,0038C
						366,28±	245,78±	40,83±	60,33±
Mn			150,00±18,20A	129,00±18,20A	461,25±25,73B	21,01C	21,01B	25,73A	25,73A
Fe			69,67±4,56B	47,67±4,56A	51,25±6,45A				

Análisis ANOVA, valores en negrita significan contenidos mayores de nutrientes o más cercanos a los rangos óptimos para el cultivo del café a nivel foliar (Cuadro 9). Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,01$).

⁷ Experimento

⁸ Experimento × sombra

⁹ Experimento × manejo

¹⁰ Experimento × sombra × manejo nutricional

El contenido de N y Zn variaron en el tiempo. El N presentó interacción entre manejo nutricional y experimento. El contenido de N fue mayor en promedio en el experimento 1 que en el 2. El Zn presentó interacción entre la sombra y experimento. El experimento 2 presentó, en promedio, mayor contenido de Zn respecto al 1 (Figura 10).

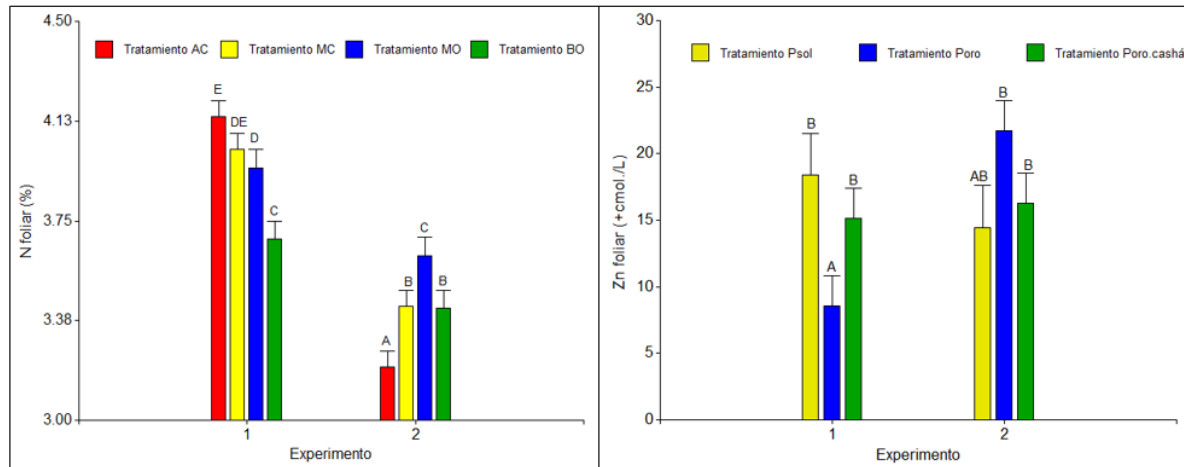


Figura 10. Análisis de medias ajustadas para las interacciones dobles del contenido de N y Zn según el experimento de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$).

3.2.3. Comparación fertilización-composta según las variables foliares

Se encontraron pocas diferencias debido al efecto de los tratamientos sobre el contenido químico foliar. No se presentaron interacciones entre fertilización y composta. Según el factor de fertilización se presentaron diferencias en las variables Zn y Mn y según el factor de composta en Mg y Fe (Cuadro 21).

Cuadro 21. Prueba de significancia para las variables foliares, según los factores fertilización y composta en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Elemento	Unidad	Fertilización	Composta	Fertilización × Composta
Ca	%	0,7355	0,8419	0,5584
Mg	%	0,2875	0,0068	0,7758
K	%	0,3111	0,1110	0,7141
P	%	0,2453	0,6464	0,9857
N	%	0,1520	0,8599	0,4828
Cu	mg/kg	0,5871	0,6183	0,8676
Zn	mg/kg	0,0226	0,2615	0,2950
Mn	mg/kg	0,0407	0,4645	0,6506
Fe	mg/kg	0,4431	0,0095	0,2049

Análisis de la varianza (ANOVA) para determinar diferencias en el contenido de nutrientes foliares. Valores en negrita corresponden a valores significativos ($p \leq 0,05$)

Las principales diferencias se encontraron debido al efecto de la dosis. La fertilización completa presentó mayor contenido de Mn, mientras los mayores contenidos de Zn se presentaron a dosis media de fertilización. Para los tratamientos de composta, a mayor dosis (15 y 30%), se presentó mayor contenido de Mg foliar; para el Fe se encontró una relación no lineal (Cuadro 22).

Cuadro 22. Medias ajustadas para las interacciones simples significativas de los factores fertilización y composta en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes

Elemento	Unidad	Fertilización		Composta		
		Completa	Media	0	15	30
Mg	%			0,26A	0,31±0,01B	0,30±0,01B
Zn	mg/kg	12,36±2,44A	20,96±2,44B			
Mn	mg/kg	332,64± 43,51B	196,94±43,51A			
Fe	mg/kg			78,67±2,87B	56,33±5,74A	75,83±5,74B

Análisis ANOVA, valores en negrita significan contenidos mayores de nutrientes o más cercanos a los rangos óptimos para el cultivo del café a nivel foliar (Cuadro 9). Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$).

3.2.4. Comparación fertilización-cal según las variables foliares

Las principales diferencias se encontraron a nivel de contenido de micro-nutrientes. Se presentaron interacciones dobles entre fertilización-cal en el contenido foliar de N y Cu. El factor de fertilización presentó diferencias en Cu, mientras que el factor cal en Ca y Fe (Cuadro 23).

Cuadro 23. Prueba de significancia para las variables foliares según los factores fertilización, cal y sus interacciones en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Elemento	Unidad	Fertilización	Cal	Fertilización × Cal
Ca	%	0,1266	0,0127	0,6574
Mg	%	0,1779	0,2832	0,8047
K	%	0,8580	0,3673	0,7295
P	%	0,2165	0,9151	0,6743
N	%	0,3751	0,0346	0,0229
Cu	mg/kg	0,0001	0,0001	<0,0001
Zn	mg/kg	0,0586	0,3563	0,7683
Mn	mg/kg	0,0774	0,0916	0,8240
Fe	mg/kg	0,3121	0,0163	0,2974

Análisis estadístico (ANOVA) para determinar diferencias en el contenido de nutrientes foliares. Valores en negrita corresponden a valores significativos ($p \leq 0,05$).

Según la dosis aplicada de cal, se presentaron diferencias en el contenido de Ca y Fe, las cuales son no lineales (Cuadro 24).

Cuadro 24. Medias ajustadas para las interacciones simples significativas, según los factores de fertilización y cal, en el contenido de nutrientes foliares en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Elemento	Unidad	Cal			
		0	3	8	20
Ca	%	0,71±0,03AB	0,62±0,06A	0,80±0,06BC	0,91±0,06C
Fe	mg/Kg	66,56±3,08A	87,83±5,34B	76,67±5,34AB	82,67±5,34B

Análisis ANOVA, valores en negrita significan contenidos mayores de nutrientes o más cercanos a los rangos óptimos para el cultivo del café a nivel foliar (Cuadro 9). Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Existe una interacción entre el efecto de la fertilización y la dosis de cal sobre el contenido de N foliar, donde a mayor dosis de fertilización se requirió menor dosis de cal para alcanzar el mayor contenido de N. El contenido de Cu presentó relaciones no lineales (Figura 11).

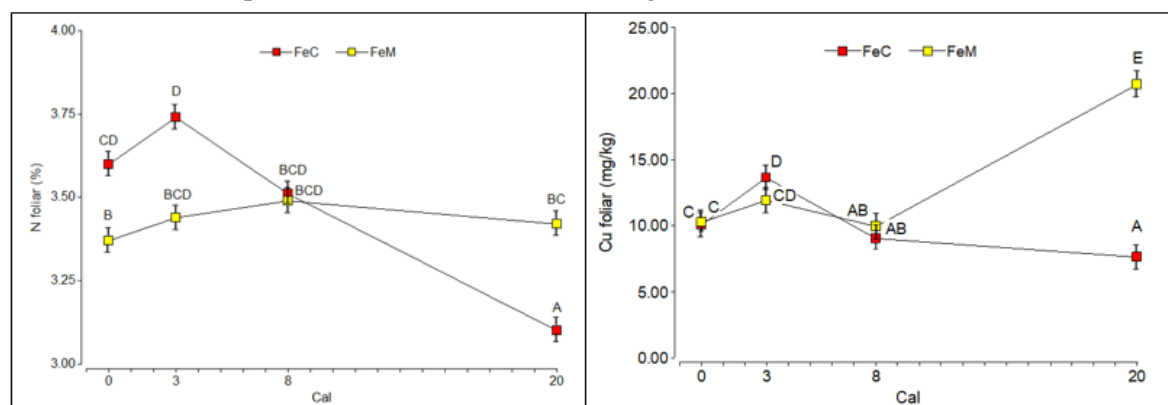


Figura 11. Análisis medias ajustadas para las interacciones dobles del contenido de N y Cu, experimento fertilización-cal en café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$)

3.3. Relación entre variables foliares y de suelo por experimento

3.3.1. Relación entre variables foliares y de suelo: experimento 1

Sobre la latente uno, se encontró un ordenamiento de los tratamientos por manejo nutricional. Del lado de los valores positivos están los tratamientos AC y MC, mientras que del lado negativo los tratamientos MO y BO. En la latente dos, en promedio, no se encontró un ordenamiento tan claro como en la 1. Los manejos AC se encontraron en promedio del lado de los valores positivos y los del MC del lado de los valores negativos. Los mayores contenidos de bases en el suelo se correlacionaron con los tratamientos MO y BO; mientras que los mayores contenidos de N, SA, acidez y Mn con los tratamientos AC y MC. La variabilidad explicada en el gráfico fue de 68,7 % en los ejes uno y dos (Figura 12).

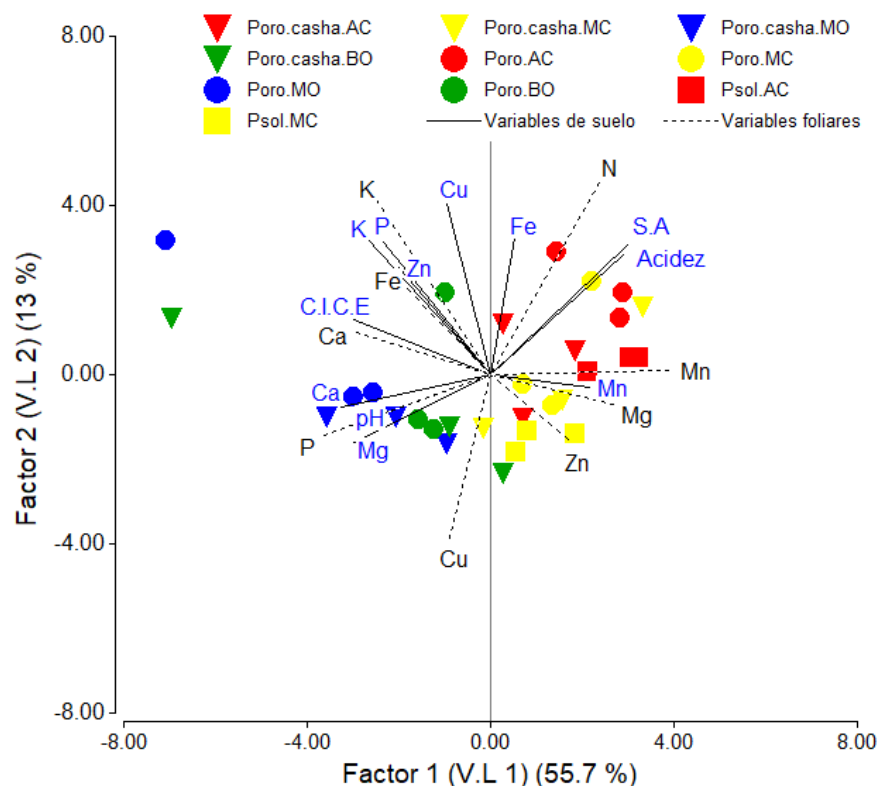


Figura 12. Representación de los dos primeros ejes de un análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS), donde la variable independiente son los análisis de suelos y las variables dependientes los análisis foliares de discos de café, experimento 1, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Existe una marcada correlación negativa entre los contenidos de N y el de Cu foliares. Los mayores contenidos de N y Mn foliares están correlacionados con mayores contenidos de Fe, SA y acidez en el suelo. Además, existe una correlación positiva entre el contenido foliar de Ca y P con el contenido en el suelo de CICE, pH, Ca y Mg (Figura 13).

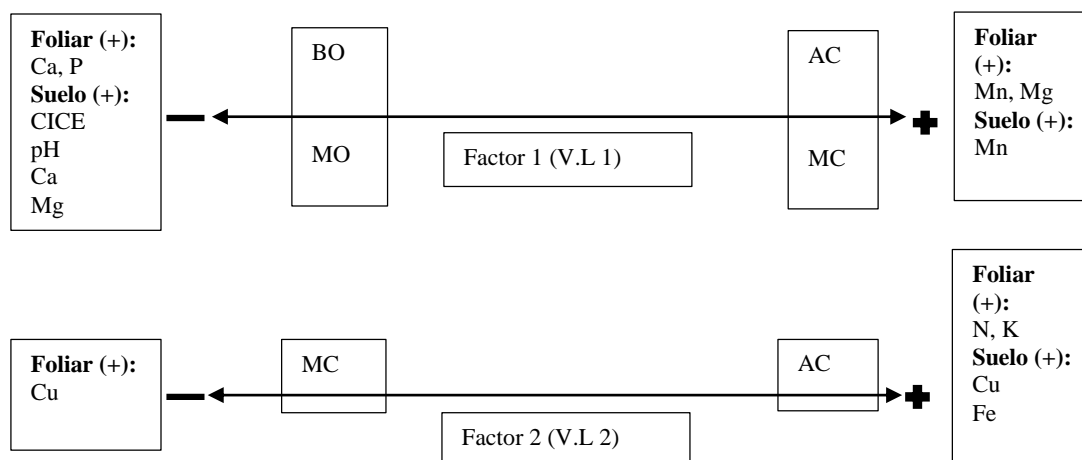


Figura 13. Descripción de las principales relaciones observadas sobre las variables latentes 1 y 2, según su distribución respectiva sobre los ejes X y Y del análisis PLS (Figura 12)

3.3.2. Relación entre variables foliares y de suelo: experimento 2

El contenido de nutrientes de las variables foliares y de suelo varió respecto al experimento 1. En la latente uno se observó un ordenamiento de los tratamientos; del lado positivo se encontraron los tratamientos MO, BO y del lado negativo los AC, MC. El contenido foliar de N se comporta diferente, ya que se concentró mayormente en los manejos MO y BO, mientras que en el experimento 1 estuvo en los manejos AC y MC. En la latente uno, para los valores positivos existió un mayor contenido de bases a nivel foliar de K y a nivel de suelo de CICE, Ca, Mg y menor pH; contrario a los contenidos de Mn foliar y acidez, SA en el suelo del lado negativo de la latente. En la latente dos, los valores positivos se dieron en mayores contenidos foliares de Cu, Fe, Zn y en el suelo de Zn, mientras que para los valores negativos en mayores contenidos foliares de Mg y Cu. La variabilidad explicada entre los ejes uno y dos es de 65% (Figura 14).

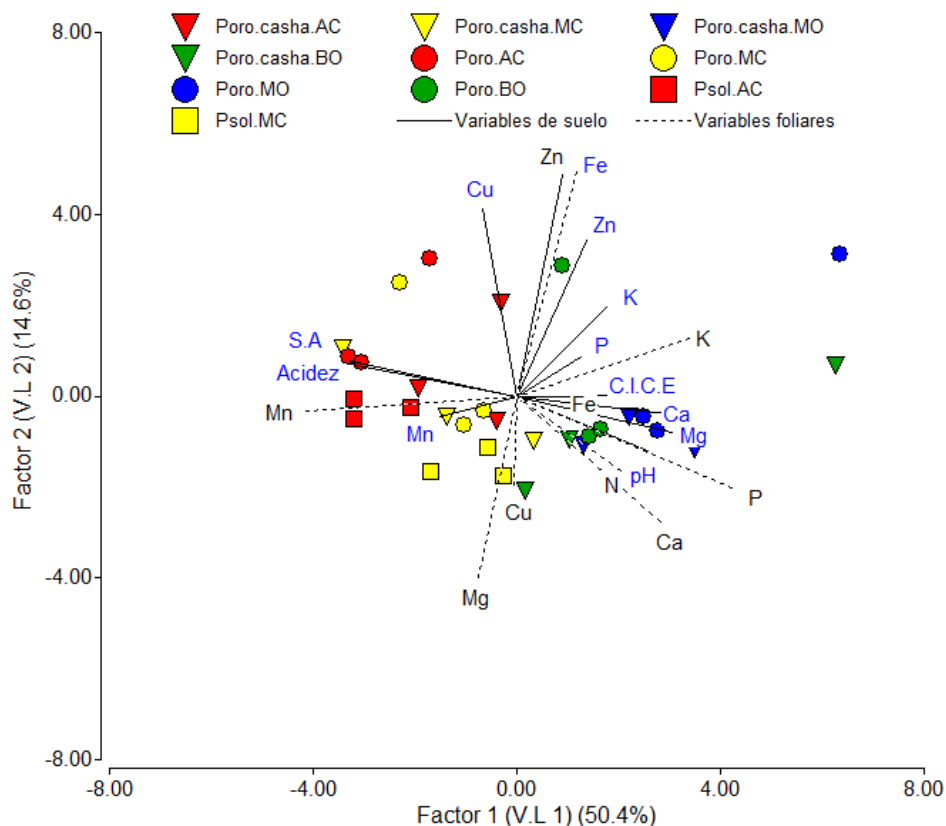


Figura 14. Representación de los dos primeros ejes de un análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS), donde la variable independiente son los análisis de suelos y las variables dependientes los análisis foliares, experimento 2, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Se dio una correlación negativa entre el CICE, Ca, Mg en el suelo y el Mn a nivel foliar y de suelo, así como entre el Zn foliar y Cu en el suelo con el contenido foliar de Mg. El K a nivel foliar tuvo una correlación negativa con el Mn a nivel de suelo (Figura 15).

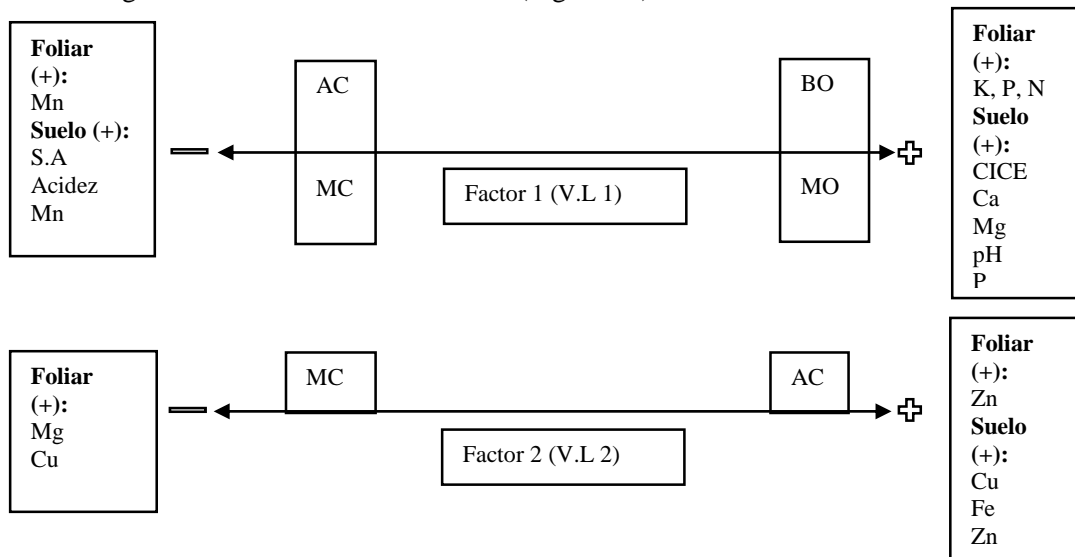


Figura 15. Descripción de las principales relaciones observadas sobre las variables latentes 1 y 2, según su distribución respectiva sobre los ejes X y Y del análisis PLS (Figura 14)

La variable latente 3 presentó diferencias para el crecimiento del AL sobre los discos de hoja. Sobre el eje 1 de la Figura 16, del lado de los valores positivos se encuentran los tratamientos MO y BO, mientras que del lado de los valores negativos los tratamientos AC y MC. Sobre este mismo eje, del lado de los valores positivos se dieron mayores contenidos de bases en el suelo tales como Ca, Mg, CICE; mientras que del lado de los valores negativos, mayores contenidos en el suelo de acidez, SA y Mn foliar. En la variable latente 3, no se correlacionó claramente ningún nutriente. Se observó una débil correlación negativa entre el contenido de Zn y Mg foliar. La variabilidad explicada entre los ejes 1 y 3 fue del 56,52% (Figura 16).

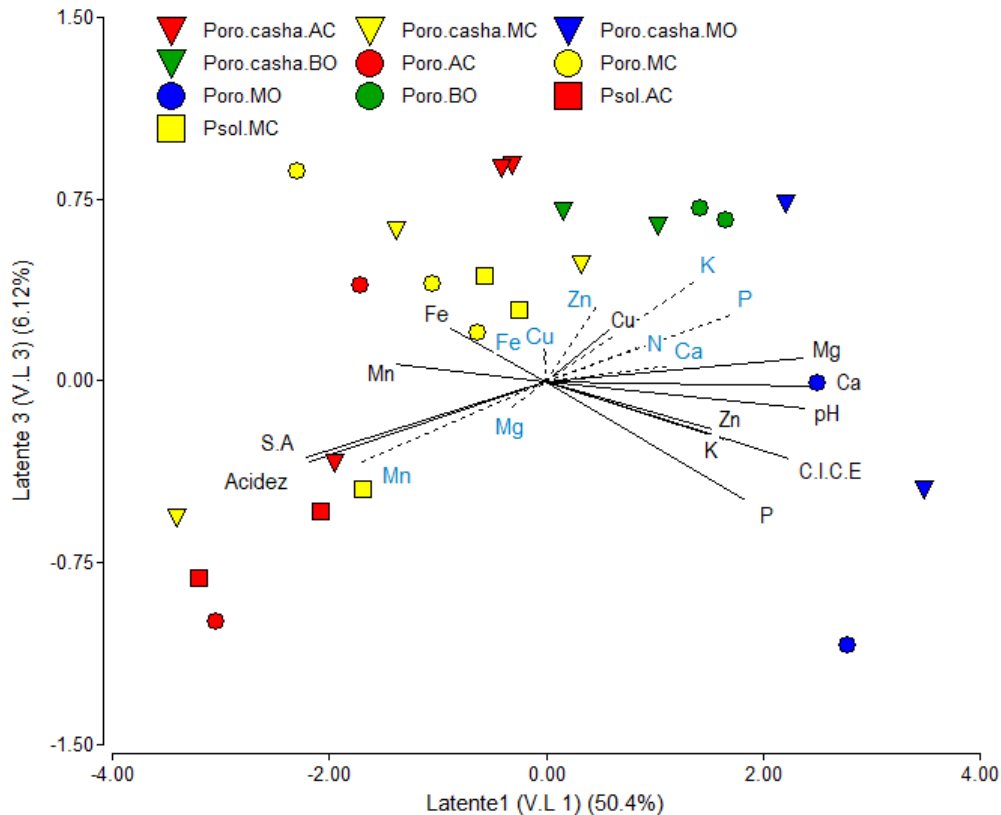
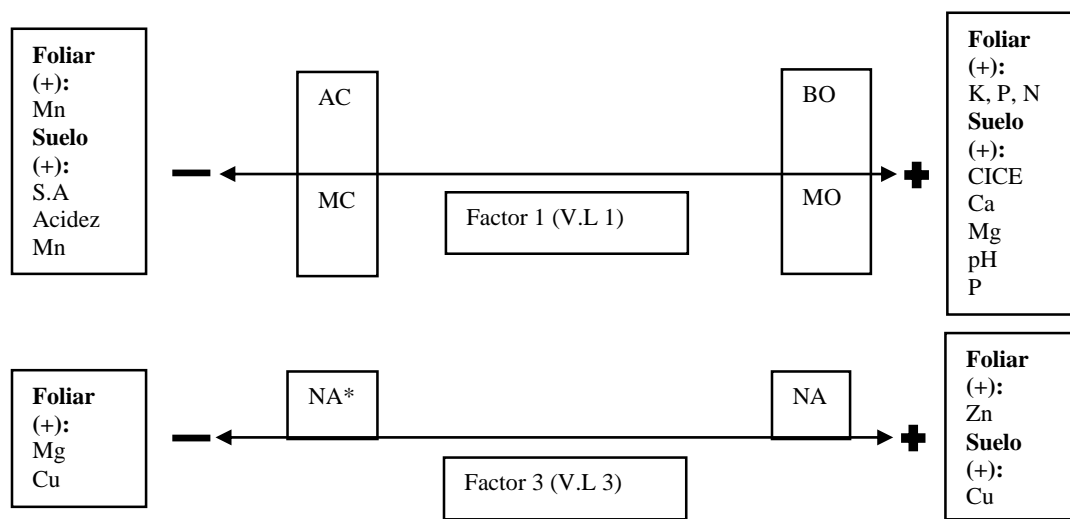


Figura 16. Representación del eje 1 y 3 del análisis de mínimos cuadrados parciales (PLS), donde la variable independiente corresponde a los análisis de suelos y la dependiente a los análisis foliares, experimento 2 , CATIE, Turrialba, Costa Rica

Los tratamientos orgánicos presentaron mayor contenido de bases, mientras que los convencionales mayores valores de acidez, Mn y SA. Sobre la latente 3, se encontraron principalmente contenidos de Cu y Fe en el suelo del lado de los valores positivos y Mg y Cu foliar del lado negativo (Figura 17).



NA*=No aplica.

Figura 17. Descripción de las principales relaciones observadas sobre las variables latentes 1 y 3, según su distribución respectiva sobre los ejes X y Y del análisis PLS (Figura 16)

3.3.3. Relación entre variables foliares: experimento 3

3.3.3.1. Experimento fertilización-cal

Sobre el eje CP 1 de la Figura 18, los tratamientos se distribuyen en función de la dosis de cal. Del lado de los valores positivos aparecen los tratamientos equivalentes a 8 y 20 ton/cal/ha y del lado de los valores negativos los tratamientos equivalentes a 0 y 3 ton/cal/ha. De igual forma, sobre el CP 1 se distribuyen los tratamientos fertilización; del lado de los valores positivos se encuentran los tratamientos de dosis media y del lado de los valores negativos la dosis completa. En el eje CP 2 no se encontró una distribución clara; sin embargo, del lado de los valores positivos están los mayores contenidos de N, P y K. La variabilidad explicada es del 57,1% entre ambos ejes (Figura 18).

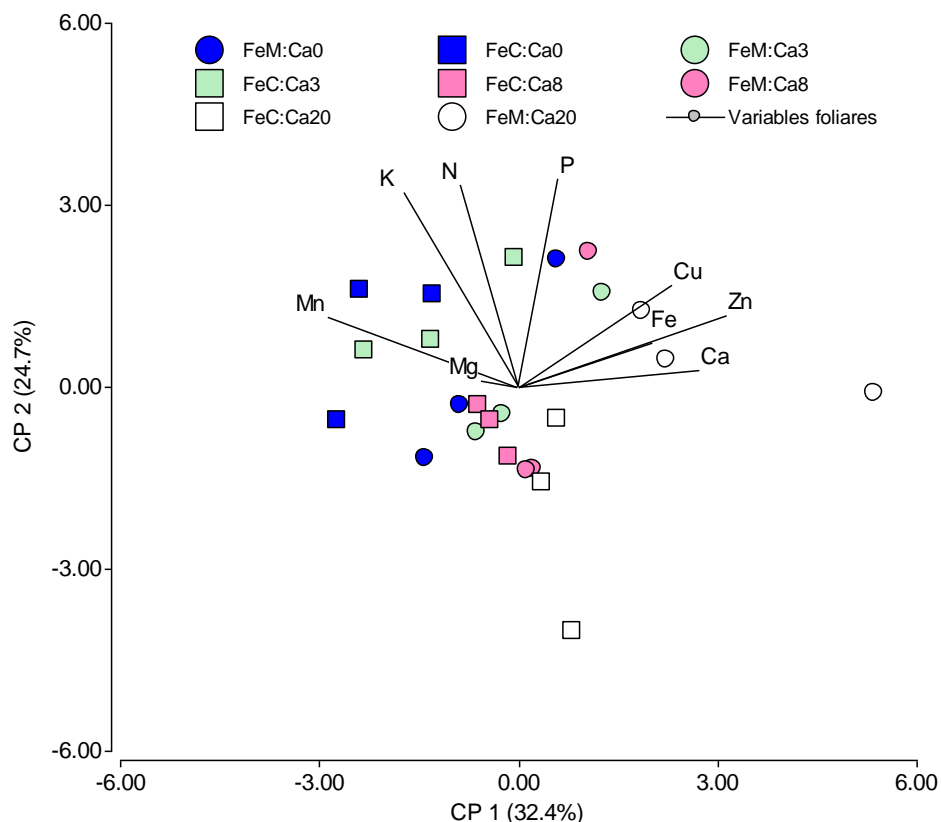


Figura 18. Representación de los dos primeros ejes de un análisis de componentes principales (ACP), para las variables foliares en función de los tratamientos fertilización-cal en café, experimento 3, CATIE, Turrialba, Costa Rica

3.3.3.2. Experimento fertilización-composta

Sobre el eje CP 1 de la Figura 19 se presenta la distribución de los tratamientos según la dosis de composta. Del lado de los valores positivos, están los tratamientos con cero dosis, en el intermedio del eje los tratamientos con 15% y del lado de los valores negativos, los tratamientos con 30% de composta. Sobre el eje CP 2 no se evidencia una distribución clara por tratamiento; sin embargo, del lado de los valores positivos se encuentran mayores contenidos foliares de Fe y del lado de los valores negativos el P se correlaciona con el Zn. La variabilidad explicada es del 52,3% entre ambos ejes (Figura 19).

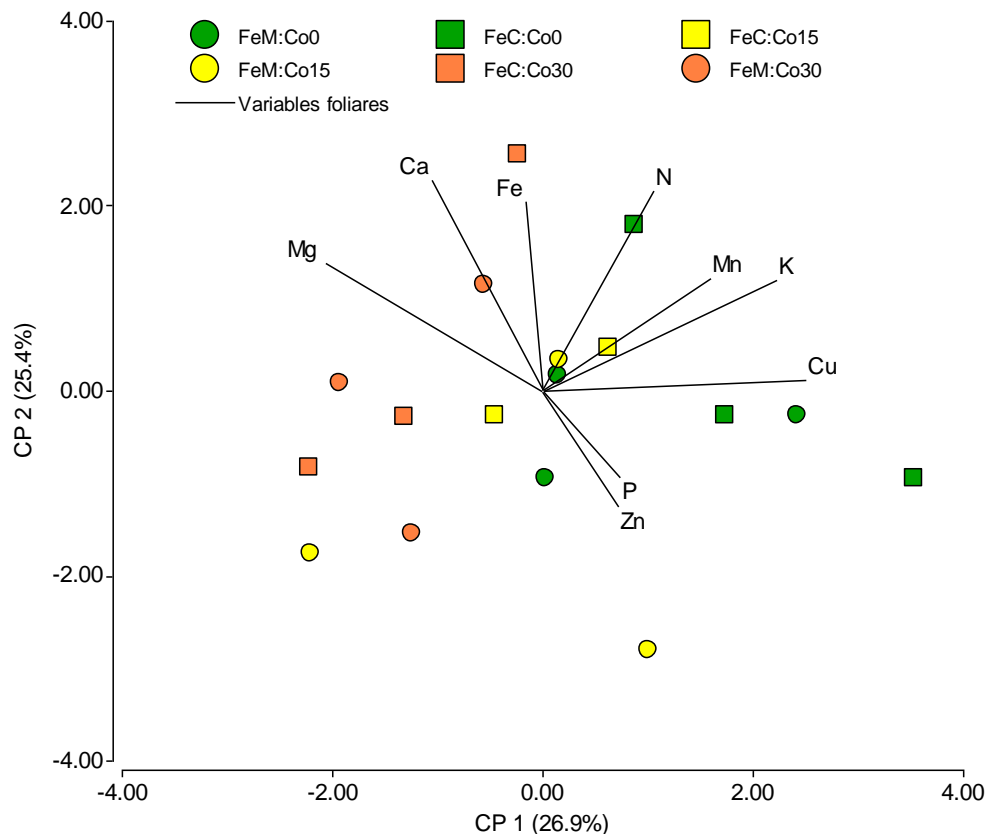


Figura 19. Representación de los dos primeros ejes de un análisis de componentes principales (ACP), para las variables foliares en función de los tratamientos fertilización-composta en café, experimento 3, CATIE, Turrialba, Costa Rica

3.4. Efecto de la resistencia fisiológica sobre el proceso de colonización (área de lesión)

3.4.1. Experimento 1, SAF de café

A partir del día 17 se inició la observación del AL en los discos de hoja. Las diferencias encontradas desde el principio del experimento se mantuvieron en el tiempo. Se observó un posible efecto no lineal de la sombra sobre el AL, donde el tratamiento de Poró.cashá presentó las menores AL y los de Poró y Psol los promedios mayores (Figura 20).

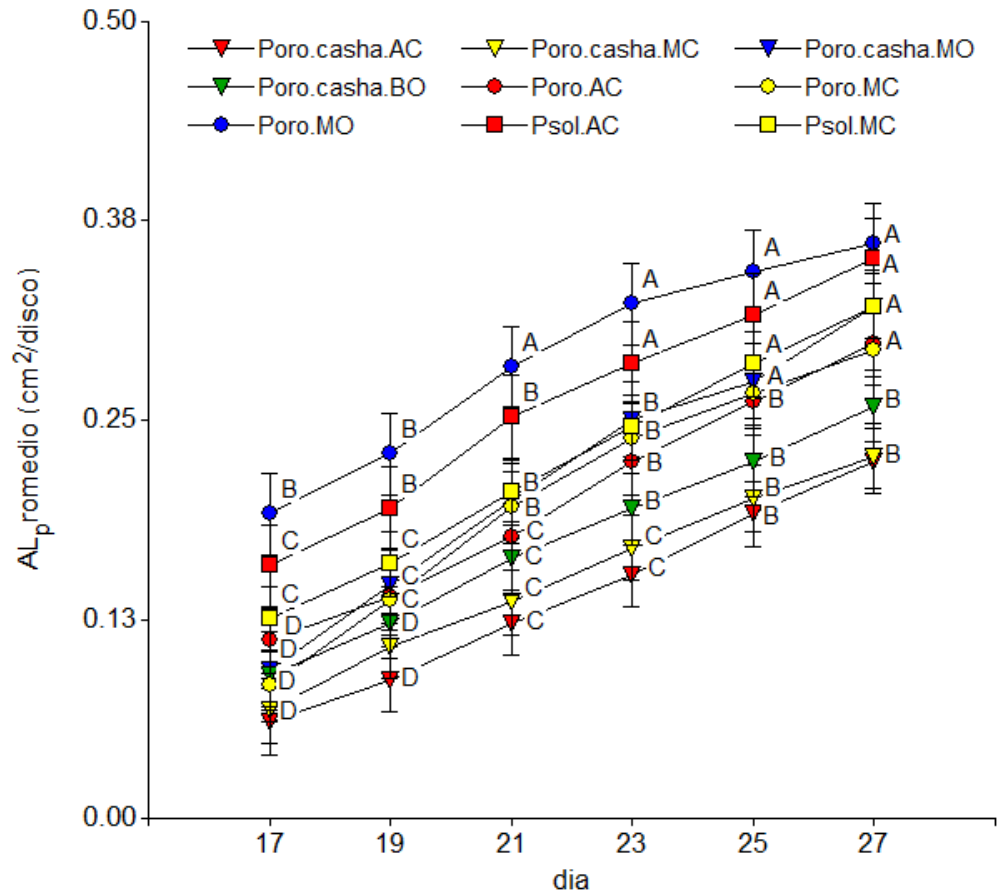


Figura 20. Curva de crecimiento del área de lesión promedio por tratamiento. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$), experimento 1, SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Se presentó un efecto de la variable latente 1 sobre la variable AL al observarse un efecto de los tratamientos sobre la misma. Los tratamientos AC y MC presentaron en promedio las menores AL, mientras que los tratamientos MO y BO las mayores. Las diferencias encontradas se explican por las diferencias en la composición química de las hojas de los tratamientos (Figura 21).

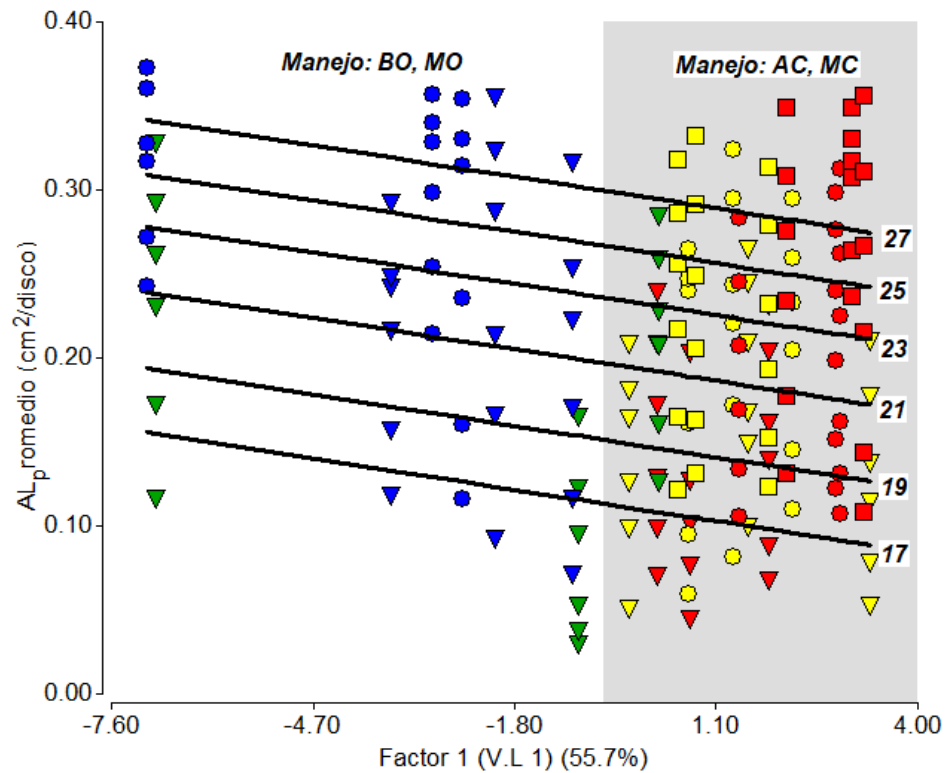


Figura 21. Medias del área de lesión por bloques por tratamiento sobre la variable latente 1, experimento 1 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Se analizaron las correlaciones entre la latente 1 y las variables químicas de suelo y foliares que la componen. Los mayores contenidos N foliar, el pH y la acidez del suelo afectaron negativamente el desarrollo del AL. Además, se encontró a mayor contenido de Ca foliar, mayor AL (Cuadro 25).

Cuadro 25. Correlaciones entre la variable latente 1 y los nutrientes de las variables foliares y de suelo ($p \leq 0,05$), experimento 1 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

	Latente1		
	Elementos	p-valor	r
Variables foliares	Ca	0,010	-0,49
	Mg	0,010	0,45
	K	0,020	-0,42
	P	0,000	-0,61
	N	0,030	0,40
	Mn	0,000	0,65
Variables de suelos	pH	0,000	-0,95
	Acidez	0,000	0,82
	Ca	0,000	-0,98
	Mg	0,000	-0,93
	K	0,000	-0,71
	P	0,000	-0,79
	Zn	0,000	-0,65
	Mn	0,001	0,58
	S.A	0,000	0,84
	CICE	0,000	-0,93

Correlaciones de Pearson, diferencias para los contenidos de las variables foliares y de suelo respecto a la latente 3. Nivel de significancia ($p \leq 0,05$).

3.4.2. Experimento 2, SAF de café

El comportamiento del crecimiento promedio del AL para este experimento es diferente al del experimento 1 (en promedio las lesiones son diez veces menores). Estas diferencias entre experimentos se pueden deber a que los rangos de nutrientes son diferentes (especialmente el contenido foliar de Ca, Mg y K). Además, este experimento presentó necrosis, principalmente en los tratamientos con el mayor crecimiento del área de lesión: Poró.cashá.MO, Poró.cashá.BO, Psol.MC y Poró.MC (Figura 22). Debido a las pocas repeticiones originadas por la necrosis, se procedió a analizar los datos a nivel de disco de hoja (Figura 23).

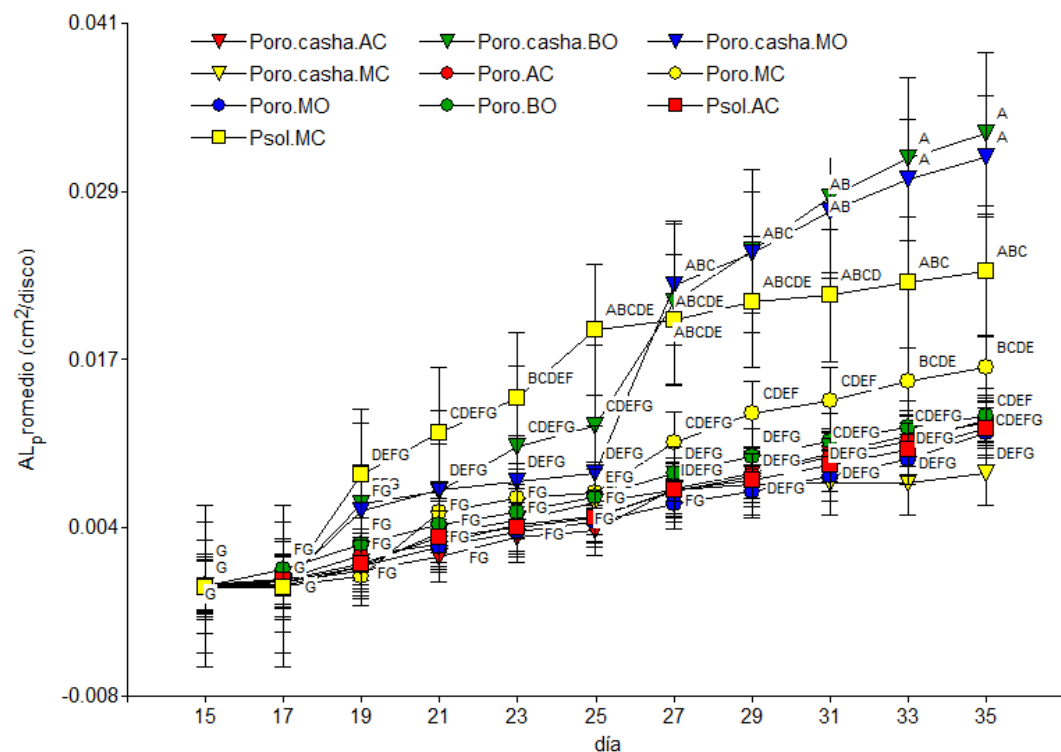


Figura 22. Curva de crecimiento del área de lesión por tratamiento, experimento 2 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Sin importar el tratamiento, la variable latente 3 presentó diferencias respecto al AL. Al analizar las correlaciones de Pearson entre la latente 3 y las variables químicas de suelo y foliares, se encontró diferencias en el contenido foliar de Mn, K y Zn; a nivel de suelo en P. A mayores contenidos de K y Zn se observó una relación decreciente del AL; por el contrario, a mayor contenido de Mn foliar y P en el suelo aumenta el AL (Figura 23).

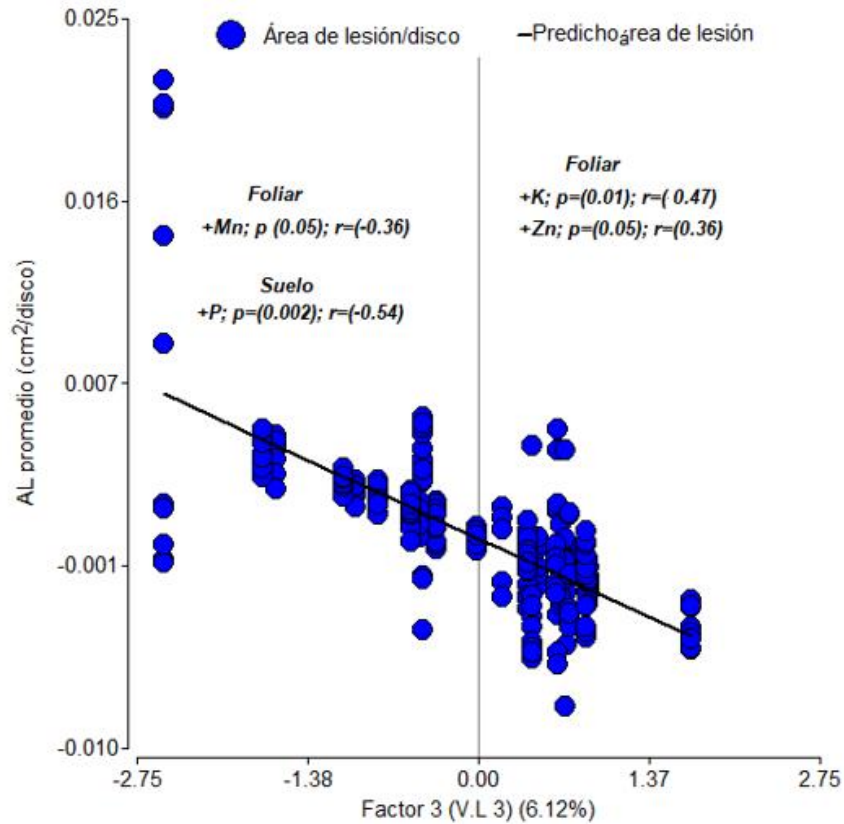


Figura 23. Relación entre el crecimiento acumulado del AL promedio con la latente 3 del experimento 2 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Contenido de nutrientes significativa, correlación de Pearson ($p \leq 0,05$)

3.4.3. Experimento 3, vivero de plantías de café

Considerando separadamente los tratamientos fertilización-composta y fertilización-cal, no se encontraron diferencias entre el crecimiento del AL y los ACP. Probablemente el reducido tamaño de las AL no permitió encontrar diferencias entre estas y las variables generadas por el ACP. Por otro lado, se encontró sin importar el experimento, una relación no lineal entre el AL y el contenido de Zn foliar (rango óptimo).

En el experimento fertilización-composta, se presentó una relación no lineal entre el crecimiento del AL y la dosis de composta, que indica que el testigo y la dosis del 30%, presentan la menor AL, mientras que el tratamiento del 15% la mayor AL (Figura 24).

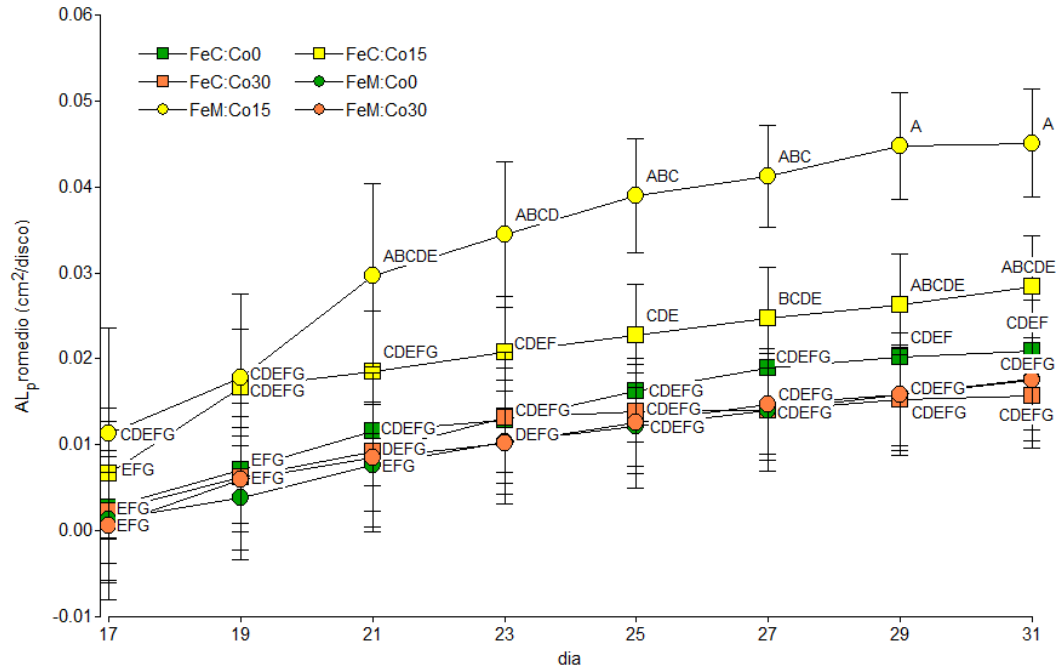


Figura 24. Curva de crecimiento del AL en función de cada tratamiento fertilización-composta del experimento 3 vivero de plantas de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$)

En el experimento fertilización-cal se dio una respuesta de la resistencia fisiológica según la dosis aplicada de cal, donde, a mayor dosis se dio un crecimiento menor del AL. Además, se presentó una tendencia de la fertilización, a la misma dosis de cal, sobre el AL que indica que a la misma dosis de cal, los tratamientos con fertilización completa presentaron menor AL (Figura 25).

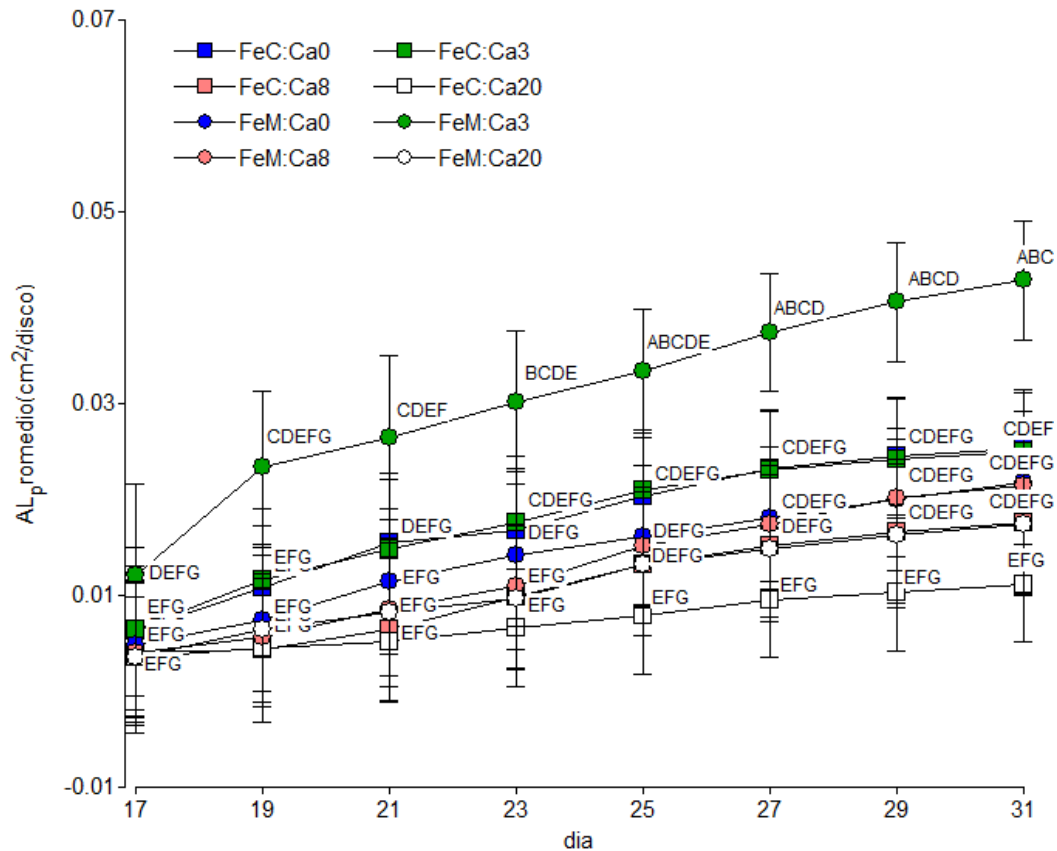


Figura 25. Curva de crecimiento del AL en función de los tratamientos fertilización-cal del experimento 3 vivero de plantas de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Letras diferentes significan valores estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$)

Sin importar el experimento (fertilización-cal o fertilización-composta), se presentó aparentemente una respuesta cuadrática del contenido de Zn a nivel foliar con el AL. Esta relación sugiere un nivel óptimo de Zn foliar entre 22,25 y 36,50 mg/kg, donde se presentan las menores AL (Figura 26).

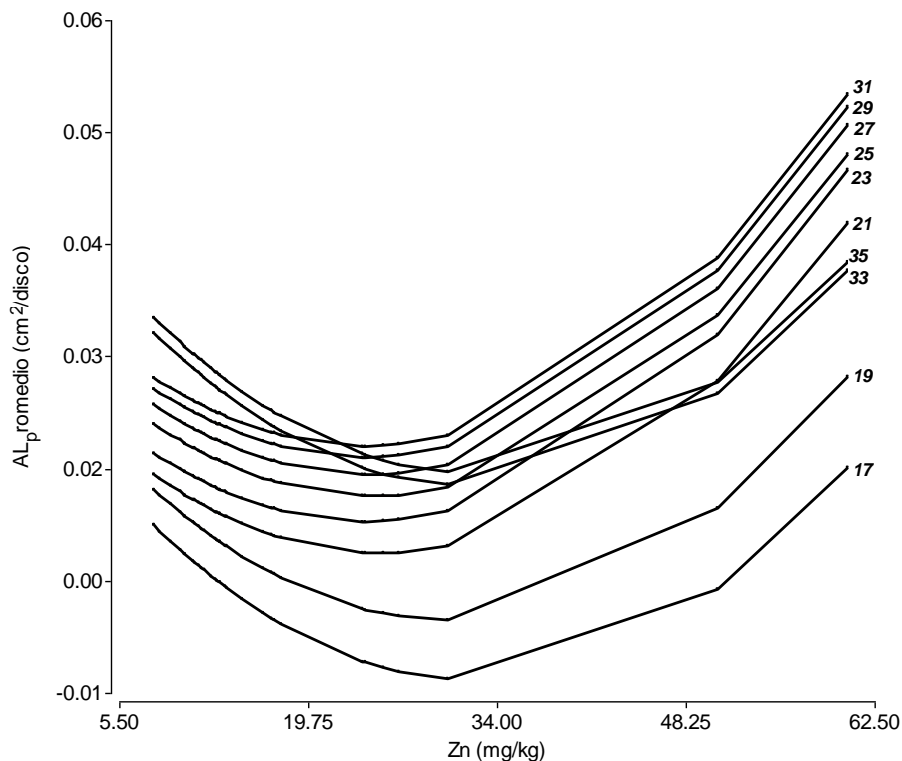


Figura 26. Relación no lineal del contenido foliar de Zn y el AL promedio presentada en el experimento 3 vivero de plantíos de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

3.5. Efecto de la resistencia fisiológica sobre el proceso de esporulación (área esporulada, conteo de uredosporas e intensidad de esporulación), experimento 1

Este experimento no cuenta con repetición. La cantidad de uredosporas depende del tratamiento, ya que se obtuvieron conteos similares en diferentes tratamientos. Por otro lado, se observó un efecto no lineal de la sombra, donde los tratamientos con menor AE fueron Psol y Poró.cashá, mientras que los mayores conteos se dieron en Poró. Debido a la necrosis, los tratamientos Poró.BO y Poró.MO no se tomaron en cuenta para este análisis (Figura 27).

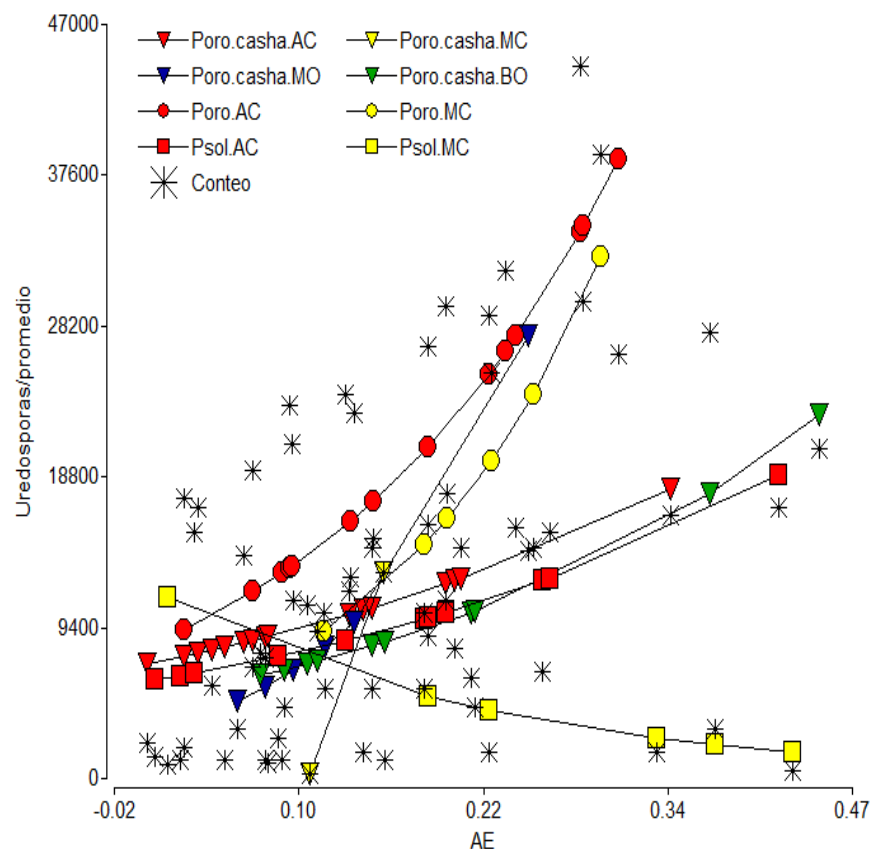


Figura 27. Relación entre el área de esporulación y el conteo de uredosporas según los tratamientos del experimento 1 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica

Para la variable intensidad de esporulación se presentaron diferencias en la latente 2 debido al contenido químico de nutrientes en el suelo y foliares. Se presentó una relación no lineal debido al tipo de sombra. Los tratamientos de Poró presentaron la mayor intensidad de esporulación. Entre las variables de mayor interés a nivel de suelo se encuentran una mayor acidez y menor pH, y a nivel foliar el N ($p=0,08$) que favorecieron la intensidad de esporulación de la roya (Figura 28).

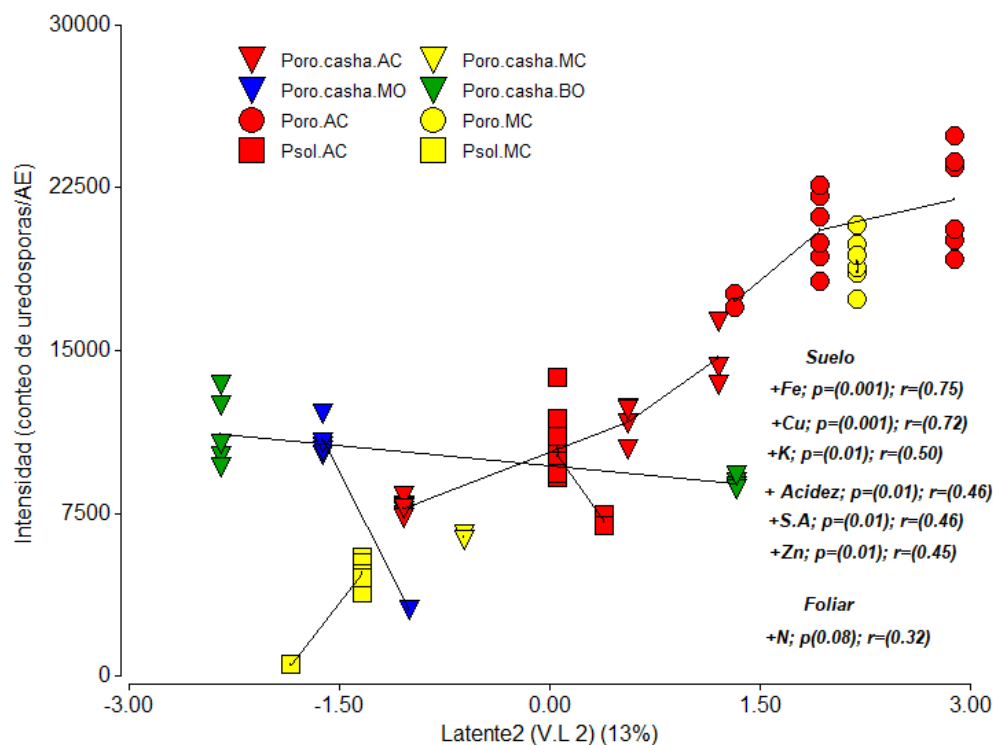


Figura 28. Representación de los discos de hoja por tratamiento y representación gráfica de la intensidad de esporulación respecto a la variable latente 2 del experimento 1 SAF de café, CATIE, Turrialba, Costa Rica. Nutrientes graficados presentaron correlaciones significativas con la variable latente 2 ($p \leq 0,05$)

4. Discusión

4.1. Efecto de los tratamientos (nutrición y sombra) sobre la composición química del suelo

A los 17 años de establecido el sistema agroforestal de café, se compararon los contenidos químicos de nutrientes del suelo para los diferentes tratamientos (sombra-nutrición), en sus respectivas combinaciones. En promedio las principales diferencias encontradas se deben al efecto de los diferentes manejos nutricionales respecto a la sombra.

Se encontró que los manejos convencionales presentaron mayores valores de acidez, Mn y menor pH, respecto a los manejos orgánicos. Entre las posibles causas se encuentran la aplicación de fertilizantes sintéticos y la lixiviación, debido a la plena exposición del suelo por la aplicación de herbicidas. Esto concuerda con lo encontrado por Hagggar *et al.* (2011), en este mismo sitio. Este autor reportó mayor acidez y menor pH en el manejo MC respecto al manejo MO. En este sentido Fassbender y Bornemisza (1987), reportaron que en la estación experimental del Tolima CENICAFÉ, después de 4 años de aplicar 300 kg/ha/año de N a plantas de café se observó una reducción en el pH en 0,27 unidades, de Ca en 1,43 cmol/kg, Mg 0,10 cmol/kg y K 0,14 cmol/kg, mientras el Al se incrementó en 0,46 cmol/kg, lo que redujo el CICE del suelo en un 25%. También Sadeghian (2016), menciona entre las principales causas de acidificación de los suelos cafetaleros el lavado de las bases intercambiables (Ca, Mg y K) y su reemplazo por Al, la descomposición de materia orgánica, así como la aplicación de fertilizantes sintéticos, principalmente nitrogenados.

Por otro lado, los manejos orgánicos presentaron mayores contenidos de bases (Ca, Mg y por tanto, mayor CICE). Esto se puede atribuir a los beneficios de la incorporación de materia orgánica (compost de broza de café), la no utilización de fertilizantes nitrogenados ni herbicidas, además de la reducción de la

escorrentía y la lixiviación debido al mantillo de protección sobre el suelo que se genera por las constantes chapas. Además, el manejo MO en promedio presentó ligeramente mayores contenidos de nutrientes respecto al manejo BO (pH, Ca, Mg y CICE y menor acidez y SA). Estas diferencias se podrían deber a que en el manejo MO se aplican 2 kg de broza de café por planta (1 kg en marzo y 1 kg en julio), respecto a 1 kg de broza del manejo BO. Hagggar *et al.* (2011) y Valencia (1999) mencionan que el aporte de materia orgánica mejora la agregación de las partículas en el suelo, permite que se adhieran en mayor proporción bases de interés (Ca, Mg, K) en los coloides y por lo tanto, reduce su probabilidad de lixiviación. Montagnini *et al.* (2015), para este mismo sitio, concluyó que el manejo MO permite mejorar las condiciones físicas y químicas del suelo, respecto a sus condiciones originales.

4.2. Efecto de los tratamientos (nutrición y sombra) sobre la composición química foliar

Se encontraron diferencias en la composición química de las hojas debido al efecto de los tratamientos (sombra-nutrición). En los experimentos 1 y 2 los contenidos de nutrientes variaron con el tiempo (exp 1 > Ca, Mg y K > exp 2). En el experimento 3 se encontraron pocas diferencias y las que se presentaron se atribuyen al efecto de las dosis aplicadas. Las diferencias entre los experimentos fertilización-cal y fertilización-composta, se encontraron principalmente en el contenido de micro-nutrientes.

El experimento 1 presentó mayores contenidos significativos de Ca, Mg y K respecto al experimento 2. La variación del contenido de nutrientes en el tiempo, podría deberse a su re-movilización de las hojas al fruto. Valarini *et al.* (2005), establecen que durante el periodo de llenado del grano ocurre, principalmente, una movilización de nutrientes a los frutos desde las hojas más próximas, además de aportes del suelo y otras partes de la planta. Esto concuerda también con lo reportado por Sadeghian *et al.* (2012), en un estudio sobre la acumulación de nutrientes en el grano y las hojas de café, donde se reporta una tendencia de reducción del contenido de nutrientes en las hojas durante el proceso de llenado de los frutos; sin embargo, no pudieron encontrar diferencias entre el contenido de nutrientes en las hojas y el proceso de desarrollo del grano. Específicamente, estos autores encontraron una tendencia a disminuir el K foliar durante el proceso de llenado del fruto, lo cual lo atribuyen a la mayor demanda de este nutriente por los frutos y su alta movilidad dentro de la planta, ya que se encuentra como ion-libre.

El N presentó una interacción con el manejo nutricional. En el experimento 1 se encontró en promedio mayor contenido de N foliar respecto al experimento 2 (exp 1 > N > exp 2). El mayor contenido de N se encontró en el tratamiento AC, mientras que en el experimento 2, en el tratamiento MO. Esto sugiere una liberación más sostenida en el tiempo del N en los tratamientos orgánicos, posiblemente relacionada al mayor contenido de materia orgánica de estos sistemas. Sadeghian *et al.* (2012), reportaron un resultado similar con una tendencia de respuesta a la aplicación de fertilizantes sintéticos, en especial en el primer semestre del año, donde aumentó el contenido de N foliar; posteriormente no encontraron una tendencia clara y su contenido varió durante el proceso de llenado del fruto.

En los experimentos 1 y 2, el efecto de la sombra sobre la composición química de la hoja puede deberse a efectos indirectos de los árboles de sombra, debido al reciclaje de nutrientes pues tienen raíces más profundas para extraer nutrientes fuera del alcance de las raíces del café. Los tratamientos de Poró y Poró.cashá presentaron mayor contenido de bases (Ca, Mg, K y P). En tal sentido, Russo y Budowski (1986), en cafetales con árboles de sombra de *Erythrina poeppigiana* (280 árboles/ha), encontraron un aporte de nutrientes por hojas caídas de 93 kg de N, 6 kg de P, 26 kg de K, 94 kg de Ca y 30 kg de Mg/ha (sin incluir aportes de poda). Además, se sabe que los árboles incorporan materia orgánica en forma de ramas y hojarasca, las cuales además contribuyen a disminuir la escorrentía y la lixiviación (Cardona y Sadeghian 2016; Villarreyna 2016).

En los experimentos 1 y 2, los efectos del manejo nutricional sobre la composición química de las hojas puede deberse a las labores intrínsecas de cada estrategia de manejo nutricional. En este sentido, los manejos orgánicos (MO y BO), presentaron los mayores contenidos de Ca, K, P y el menor contenido de Mn foliar, en comparación a los manejos convencionales (AC y MC). Estos efectos se pueden atribuir a la mayor cantidad de materia orgánica presente en los manejos orgánicos debido a la adición de abonos orgánicos, chapeas para control de malezas y conservación del suelo por medio del mantillo de protección (Hagggar *et al.* 2011; Valencia 1999 y Sadeghian *et al.* 2012).

En el experimento 3 (fertilización-composta), se presentaron diferencias en el contenido de micro-nutrientes en hojas, específicamente el Mg. Esto concuerda con lo reportado por McMahon (2012), quien menciona que la materia orgánica favorece la retención y disponibilidad de bases para la absorción por las raíces de la planta. Se presentó mayores contenidos de Zn al aplicar la dosis media de fertilización; esta relación es no lineal y no se entiende bien, sin embargo, se sabe que el Zn en el cultivo del café responde mejor a aplicaciones foliares debido a que es poco móvil en el suelo (Sadeghian 2016 y Valencia 1999). Los mayores contenidos de Mn se encontraron en los tratamientos con dosis completa de fertilizante. Este efecto se pudo deber al efecto acidificante de los fertilizantes sintéticos que aumento el Mn en la solución del suelo y su posterior adsorción por la planta (Sadeghian 2016).

En el experimento 3 (fertilización-cal), existe una relación óptima entre la dosis de fertilización y la enmienda calcárea para alcanzar mayores valores de adsorción del N a nivel foliar. En la literatura se encuentran ampliamente reportados los beneficios de la aplicación de enmiendas para mejorar la disponibilidad de nutrientes y la adsorción de estos por la planta (ICAFE 2014).

4.3. Efecto de los factores de manejo nutricional y sombra sobre el proceso de colonización de la roya en los discos de hoja (crecimiento del área de lesión)

Se encontraron resultados muy variados entre los experimentos 1, 2 y 3. Se dieron relaciones entre los experimentos 1 y 2, pero no en el 3. En los experimentos 1 y 2 se obtuvo una relación congruente para el P foliar (a mayor contenido de P, mayor AL). Dordas (2008) menciona que el efecto del P sobre los parásitos biótrofos es poco claro; sin embargo, menciona que el P promueve el crecimiento radical, lo cual le permite a las plantas superar el ataque de algunas enfermedades. En relación al cultivo del café, Lagos (2014) en Honduras, mediante entrevistas a productores, reportó un efecto opuesto al que se encontró en este estudio, pues menciona que la aplicación de P foliar aumentó la resistencia fisiológica de la planta a la roya.

Por otro lado, algunos efectos que se presentaron en el experimento 1 (Mg, N foliar y pH, acidez, Ca, Mg, K, S.A y CICE en el suelo), no se presentaron en el 2. Además, se presentaron contradicciones en el contenido foliar de Mn, K y Zn.

En el experimento 1, a mayor contenido de Mn se presentó un menor crecimiento del AL, mientras que en el experimento 2, a mayor contenido de Mn el AL fue mayor. En el caso del K, en el experimento 1 a mayor contenido de K, el AL fue mayor y en el 2, a mayor contenido de K fue menor. En el caso del Zn, se reportan efectos inconsistentes que indican que pueden favorecer, perjudicar o no presentar efecto sobre las enfermedades (Dordas 2008). En este estudio el Zn presentó efectos contradictorios relacionados con estos elementos, que sugieren relaciones no lineales, donde se podría encontrar un óptimo de contenido foliar que aumente la resistencia fisiológica de la planta a la roya. Según Avelino *et al.* (2004), es difícil entender el efecto de un elemento sobre el ciclo patogénico del hongo o la planta debido a que un elemento puede actuar en diferentes mecanismos, pudiendo afectar o favorecer, tanto al patógeno como a la planta al mismo tiempo.

En el experimento 1 se encontraron tres relaciones opuestas a lo reportado por la literatura con Ca, Mn y N foliar que indican que a mayor contenido foliar de Ca se presentó mayor AL y a mayor contenido de Mn y N menor. Según Dordas (2008), al disminuir la concentración de Ca aumenta la susceptibilidad a

hongos debido a que este elemento es importante en la estabilidad y funcionamiento de las membranas de las plantas, además de un componente importante de la pared celular. McMahon (2012) y Dordas (2008), reportan que los efectos del N dependen del tipo de patógeno; en este sentido Dordas (2008), menciona que los parásitos obligados (como la roya del café) se favorecen del suministro de mayores cantidades de N. Lagos (2014) reportó que mayores cantidades de N aplicado al suelo y fungicidas con urea, se relacionan con mayores incidencias de roya. En el cultivo de trigo Neumann *et al.* (2004) encontraron para la roya amarilla que a mayores aplicaciones de N aumentaba la severidad de la enfermedad. En el caso del Mn, Dordas (2008) menciona como el manganeso tiene la capacidad de afectar el desarrollo de los patógenos dentro de la planta de tres vías diferentes y simultáneas. Mediante barreras mecánicas, el hongo progresa dentro de la planta de forma intercelular, el manganeso es importante en la biosíntesis de lignina y suberina las cuales contribuyen a la constitución de las barreras mecánicas. Por otro lado, contribuye a la biosíntesis de fenoles (sustancias anti-fúngicas) y además, tiene la capacidad de inhibir varias enzimas de los hongos, esenciales para su crecimiento y degradación de las paredes celulares del hospedero.

Las diferencias observadas entre los efectos de las variables químicas y de suelo sobre las AL, podrían deberse a que no se está contemplando el mismo rango de datos. En el experimento 1 existe un contenido significativo mayor de Ca, Mg y K foliar respecto al experimento 2. Además, el N foliar pasó de tener los valores más altos del manejo nutricional AC al MO. No se descarta un posible efecto de los fungicidas en el experimento 2, a pesar de las precauciones tomadas en cuenta, ya que en promedio los tratamientos AC y MC presentaron las menores AL.

En el experimento 3 el tamaño del AL fue menor, respecto a los experimentos 1 y 2 lo cual, posiblemente, no permitió observar relaciones entre el proceso de colonización y los componentes principales de las variables foliares. Se encontró una relación con el Zn; entre los niveles de contenido foliar de 22,25 y 36,50 mg/kg, se presentó un menor crecimiento del AL. Esto concuerda con Carvalho *et al.* (2008), los cuales probaron el efecto de aplicar diferentes dosis de sulfato de zinc en combinación con fungicidas. Según los resultados, se dio un menor efecto de la roya mediante aplicaciones foliares en concentraciones de 0,6% a 0,75%, sin embargo, a mayores concentraciones de sulfato de zinc se vio favorecida la incidencia de *Cercospora coffeicola*.

Las contradicciones aparentes en los efectos de nutrientes sobre el proceso de colonización muestran la complejidad de las relaciones resistencia fisiológica-hospedero-patógeno (Avelino y Rivas 2013). En el mismo sentido, las diferencias en la constitución química de las hojas sugieren efectos no lineales respecto al desarrollo de la roya. Estos efectos son difíciles de estimar ya que un elemento puede actuar en diferentes vías al mismo tiempo, pudiendo favorecer y perjudicar la resistencia fisiológica del hospedero a los patógenos.

4.4. Efecto de los factores de manejo nutricional y sombra sobre el proceso de esporulación de la roya en los discos de hoja (área esporulada), conteo e intensidad de esporulación)

La estimación de las variables respuesta AE, conteo e intensidad de esporulación se determinó solo para el experimento 1; por tanto, no se presentó repetición entre experimentos. Se encontró un efecto no lineal de la sombra en los tratamientos de Poró que obtuvieron los valores más altos del conteo de uredosporas e intensidad de esporulación. Además del efecto de la sombra, se presentaron diferencias entre la intensidad de esporulación y la composición química del suelo y foliar.

La cantidad de uredosporas dependió del tratamiento por lo que se alcanzaron conteos similares en tratamientos diferentes. El efecto no lineal de la sombra podría estar ligado a la intensidad de luz a la que se exponen las hojas previo a la inoculación de roya. En este sentido Eskes (1982), reportó que la exposición solar por más de 6 semanas antes de la inoculación de hojas de café se relacionó con mayor intensidad en

discos de hoja de café. Este autor menciona que este efecto se puede deber a una modificación de las hojas por la exposición solar; sin embargo, no especifica el tipo de modificación. Respecto a las modificaciones que sufren las hojas de café debido a la intensidad de luz Rodríguez *et al.* (2016), reportaron que las hojas expuestas a mayor intensidad de luz presentaron menor tamaño en comparación a hojas bajo sombra (30 y 50% de sombra regulada). Además, a pleno sol encontraron mayor grosor del parénquima empalizada y mayor frecuencia estomática. En este sentido, Sánchez (2017), indicó que la intensidad de esporulación, podría estar relacionada con la densidad de estomas, ya que a mayor densidad de estomas, mayor sería la producción de uredosporas por área afectada. Por tanto, el efecto no lineal de la sombra sobre la intensidad de esporulación aparentemente está relacionada con el tipo y cantidad de sombra que reciben durante un largo periodo de tiempo las hojas de café previo a la inoculación de roya.

Se encontraron efectos positivos de los nutrientes en el suelo (Fe, Cu, K, Zn, acidez y S.A), además de una relación casi significativa del N foliar ($p=0,08$ y $r=0,32$) sobre la intensidad de esporulación.

Para el Fe el resultado obtenido concuerda con lo reportado por Avelino¹¹ (2017) en Guatemala quien reportó una relación lineal creciente (a mayor contenido de Fe en el suelo, mayor incidencia de roya). Este mismo autor encontró en México que a mayor acidez se da una mayor severidad de la roya. En el caso del K se reportan efectos opuestos al encontrado, debido a que el K favorece la resistencia fisiológica de la planta. Por el contrario McMahon (2012), menciona que deficiencias de este elemento aumenta la susceptibilidad de la planta a algunas enfermedades. Los efectos del Zn sobre los parásitos biotrófos como la roya del café, se encuentran poco claros en la literatura. Según Dordas (2008) se sabe que el Zn estimula el crecimiento de la planta y actúa como cofactor de numerosas enzimas. Al igual que otros micro-nutrientes, se encuentra involucrado en una amplia gama de mecanismos de resistencia a las enfermedades. McMahon (2012), reporta en general que los micro-nutrientes tienden a mejorar la resistencia fisiológica de la planta debido a que actúan como promotores de un gran número de mecanismos de defensa y enzimáticos.

El N favoreció el proceso de esporulación de la roya, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura sobre parásitos biotrófos.

Dordas (2008), menciona como el N afecta a los parásitos necrotróficos y beneficia a los parásitos biotrófos. Este mismo autor indica que al aumentar las tasas de N, aumenta la tasa de crecimiento vegetativo modificando la proporción a favor de tejido joven respecto al tejido maduro (los tejidos jóvenes son más susceptibles). Asimismo, se da un aumento significativo en la concentración de aminoácidos en el apoplasto y en la superficie de la hoja lo que promueve la germinación y el crecimiento de los conidios. También las altas tasas de N disminuyen el metabolismo de fenoles y el contenido de lignina, lo cual reduce las defensas de la planta. Lagos (2014) en Honduras, reportó efectos contradictorios debido a que la aplicación de N favoreció el crecimiento del hospedero (efecto dilución), pero disminuyó la resistencia fisiológica de la planta a la roya. Toniutti *et al.* (2017) obtuvieron resultados opuestos al presente estudio pues encontró mediante inoculaciones de roya en plantías de café que, a igual intensidad de luz y altas dosis de aplicación de N redujeron la intensidad de esporulación, mientras que a bajas dosis de N la intensidad de esporulación fue favorecida.

En los experimentos 2 y 3 no se obtuvo esporulación debido a que los discos de hoja se necrosaron antes de esporular. Fagioli *et al.* (1998), también reportó problemas de necrosis en hojas desprendidas inoculadas con roya que explicó a posibles causas como la baja intensidad de luz en el periodo de conservación de las hojas, recolección de hojas en campo en estado de senescencia y humedad relativa de

¹¹ Informe no publicado: Ph.D Jacques Avelino, Experto en roya, CATIE, CIRAD

los discos de hoja. A pesar de considerar estas causas en el desarrollo de los experimentos, hubo necrosis. No se descarta como causa alguna falla técnica en algún proceso de laboratorio.

5. Conclusiones

- Los tratamientos de manejo nutricionales orgánicos (MO y BO), fueron eficientes en mejorar las condiciones químicas del suelo y foliares respecto a los manejo nutricionales convencionales (AC y MC).
- El rango de datos entre el experimento 1 y el 2 es diferente. Por lo tanto, el contenido de nutrientes en la hoja varía en tiempo.
- En el experimento 1 las relaciones encontradas del Ca y el N sobre el AL, no corresponden a lo reportado por la literatura. Este resultado podría deberse a la capacidad de los elementos de actuar en diferentes mecanismos, al mismo tiempo, sobre el patógeno o el hospedero.
- Las contradicciones aparentes en los efectos de nutrientes sobre el proceso de colonización, muestran la complejidad de las relaciones resistencia fisiológica-hospedero-patógeno.
- Para la intensidad de esporulación, debido a los efectos positivos (principalmente del suelo), se sugiere que el mayor contenido de nutrientes favorece la fase de esporulación de la roya.

6. Recomendaciones

- Para esclarecer los efectos del Zn sobre la fase de colonización y esporulación, se sugiere probar su aplicación en diferentes dosis, a nivel foliar y bajo condiciones controladas.
- Debido a la relación casi significativa del N foliar (0,08) sobre la intensidad de esporulación, se sugiere la aplicación de diferentes dosis de N (al suelo y foliar).
- Se sugiere validar en un laboratorio alternativo, la metodología de inoculación de discos de hoja con uredosporas de roya para comparar los resultados obtenidos en el presente estudio.

7. Referencias bibliográficas

- Agrios, GN. 1998. Fitopatología. 2 ed. México, Editorial Limusa (Fisiología de las enfermedades de las plantas). p. 11-12.
- Avelino, J; Hoopen, GMT; DeClerck, FAJ. 2011. Ecological Mechanisms for Pest and Disease Control in Coffee and Cacao Agroecosystems of the Neotropics. In Rapidel, B; Le Coq, J-F; Beer, J. Ecosystem services from agriculture and agroforestry: measurement and payment. Londres, United Kingdom, Eartscan Publications. p 92-117
- Avelino, J; Rivas, G. 2013. La roya anaranjada del cafeto. Disponible en <http://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01071036.p.1-47>
- Avelino, J; Willocquet, L; Savary, S. 2004. Effects of crop management patterns on coffee rust epidemics. Plant Pathology 53:541-547.
- Avelino, J; Muller, R; Eskes, A; Santacero, R; Holguin, F. 1999. La roya anaranjada del cafeto: mito y realidad. DESAFIOS de la caficultura en Centroamérica. In Bertrand, B; Rapidel, B (eds.). Desafíos de la caficultura en Centroamérica. San José, Costa Rica, IICA. p. 194-241.
- Avelino, J.; Zelaya, H.; Merlo, A.; Pineda, A.; Ordóñez, M.; Savary, S. 2006. The intensity of a coffee rust epidemic is dependent on production situations. Ecological Modelling 197(3):431-447.
- Brenes, A. 2016. Efecto de la sombra de Cashá (*Chloroleucon eurycyclum*) sobre los procesos de colonización, esporulación y dispersión aérea de la roya (*Hemileia vastatrix*) sobre plantas de café (*Coffea arabica*) en la zona de Turrialba, Costa Rica. Thesis Mag. Sc. Turrialba. Costa Rica, CATIE. 50 p.
- Cardona, DA; Sadeghian, S. 2006. Evaluación de propiedades físicas y químicas de suelos establecidos con café bajo sombra ya plena exposición solar. Cenicafé 56(4):348-364.
- Carvalho, V; Cunha, R; Gontijo, P; Felicori, J. 2008. Influência do zinco na incidência de doenças do cafeeiro (en línea). Consultado 13 ene. 2018. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Paulo_Guimaraes3/publication/250050371_Influencia_do_zinco_na_incidencia_de_doencas_do_cafeeiro/links/543fff400cf2fd72f99dcbbba/Influencia-do-zinco-na-incidencia-de-doencas-do-cafeeiro.pdf.
- Costa, MN; Zambolim, L; Rodrigues, FA. 2006. Effect of levels of coffee berry removals on the incidence of rust and on the level of nutrients, carbohydrates and reductor sugar. Fitopatol. Bras. 31(6):564-571.
- Dordas, C. 2008. Role of nutrients in controlling plant diseases in sustainable agriculture. A review. Agron. Sustain 28(1):33-46.
- Eskes, A. 1982. The use of leaf disk inoculations is assessing resistance to coffee leaf rust (*Hemileia vastatrix*). Netherlands Journal of Plant Pathology 88(4): 127-141
- Fagioli, G; Berry, D; Bieysse, D. 1988. Recherche sur la résistance incomplete á *Hemileia vastatrix* Berk ET BR. Dans un groupe de génotypes de *Coffea arabica* L. origine Éthiopienne (en línea). Café, Cacao, Thé 34(2):105-144. Consultado 13 ene. 2018. Disponible en línea: http://publications.cirad.fr/une_notice.php?dk=441467

- Fassbender, HW; Bornemisza, E. 1987. Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina (en línea). San José, Costa Rica, IICA (Colección de libros y materiales educativos). Consultado 14 ene. 2018. Disponible en <https://books.google.co.cr/books?id=UyfLUzbPxpYC>
- Ferrandino, FJ. 2008. Effect of crop growth and canopy filtration on the dynamics of plant disease epidemics spread by aerially dispersed spores. *Phytopathology* 98:492-503.
- Gilchrist-Saavedra, L; Fuentes Davila, G; Martínez-Cano, C. 1995. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. 2da. ed. México D.F., México, CIMMYT.
- Granados, E. 2014. Evaluación de la incidencia y severidad de *Hemileia vastatrix* en plantas de café bajo diferentes intensidades de sombra y estrategias de manejo. Tesis, Lic. Turrialba, Costa Rica, Universidad de Costa Rica.
- Haggar, J; Barrios, M; Bolaños, M; Merlo, M; Moraga, P; Munguia, R; Ponce, A; Romero, S; Soto, G; Staver, S; Virginio, E. de M. 2011. Coffee agroecosystem performance under full sun, shade, convencional and organic management regimes in Central America. *Agroforestry Systems* 82:285-301.
- ICAFE (Instituto del Café de Costa Rica). 2014. Caracterización de la fertilidad de suelos cafetaleros en Costa Rica. San José, Costa Rica. 59 p.
- Lagos, S. 2014. Efecto de la condición química del suelo y de la fertilización sobre la incidencia, severidad y resistencia fisiológica de plantas de café a la roya (*Hemileia vastatrix*). Thesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE.
- López-Bravo; DF; Virginio-Filho, EdM; Avelino, J. 2012. Shade is conducive to coffee rust as compared to full sun exposure under standardized fruit load conditions. *Crop Protection* 38:21-29.
- McMahon, P. 2012. Effect of Nutrition and Soil Function on Pathogens of Tropical Tree Crops. *Plant Pathology*. In Cumagun, CJ (ed.). *Plant Pathology*. Disponible en www.intechopen.com/books/plant-pathology/effect-of-nutrition-and-soil-function-on-pathogens-of-tropical-tree-crops. p. 241-272.
- Mendgen, K; Struck, C; Voegelé, RT; Hahn, M. 2000. Biotrophy and rust haustoria. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 56(4):141-145.
- Montagnini, F; Somarriba, E; Murgueitio, E; Fassila, H; Eibl, B. 2015. Sistemas Agroforestales. Funciones Productivas, Socioeconómicas y Ambientales. Cali, Colombia, CIPAV. 454 p. (Serie técnica. Informe técnico. 402).
- Morais, H; Caramori, PH; Ribeiro, AMdA; Gomes, JC; Kogushi, MS. 2006. Microclimatic characterization and productivity of coffee plants grown under shade of pigeon pea in Southern Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 41(5):763-770.
- Neumann, S; Paveley, ND; Beed, FD; Sylvester-Bradley, R. 2004. Nitrogen per unit leaf area affects the upper asymptote of *Puccinia striiformis* f. sp. tritici epidemics in winter wheat. *Plant Pathology* 53:725-732.

- Pico, J. 2014. Efecto de la sombra del café y el manejo sobre la incidencia, severidad, cantidad de inóculo y dispersión de *Hemileia vastatrix* en Turrialba, Costa Rica. Thesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 65 p.
- Rodríguez, L; Guevara, F; Gómez, H; Fonseca, M; Gómez, J; Pinto, R. 2016. Anatomía foliar relacionada con la ruta fotosintética en árboles de café (*Coffea arabica* L. var. Caturra Rojo) expuestos a diferentes niveles de radiación solar en la Sierra Maestra, Granma, Cuba. *Acta Agronómica* 65(3):248-254
- Russo, RO; Budowski, G. 1986. Effect of pollarding frequency on biomass of *Erythrina poeppigiana* as a coffee shade tree. *Agroforestry Systems* 4(2):145-162.
- Rudy, N; Smeltekop, H; Almanza, J; Loza-Murguía, M. 2011. Evaluation of biocontrol ability of native strains of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia* and *Fusarium* sp. in coffee (*Coffea arabica*) in experimental conditions. *Journal of the Selva Andina Research Society* 2(1):43-52.
- Sadeghian, S. 2016. La acidez del suelo, una limitante común para la producción de café (en línea). *Avances Técnicos Cenicafé* 466. Consultado 05 ene. 2018. Disponible en <http://www.cenicafe.org/es/publications/AVT0466.pdf>.
- Sadeghian, S; Mejía, M; Gonzáles, O. 2012. Acumulación de nitrógeno, fósforo y potasio en los frutos de café (*Coffea arabica* L.) Variedad Castillo. *Revista Cenicafé* 63 (1):7-18.
- Salgado, BG; Macedo, RLG; Carvalho, VLd; Salgado, M; Venturin, N. 2007. Progress of rust and coffee plant cercosporiose mixed with grevilea, with ingazeiro and in the full sunshine in Lavras-MG. *Ciência e Agrotecnologia* 31(4):1067-1074.
- Sánchez, K. 2017. Evaluación de la susceptibilidad de diferentes etapas fenológicas de plantas de café (*Coffea arabica* L. var Caturra, Catuaí, CR-95) al agente causal de la enfermedad roya (patógeno *Hemileia vastatrix*), en invernadero, en la zona de Turrialba. Tesis, Lic. Turrialba, Costa Rica, Universidad de Costa Rica.
- Schuppener, H; Harr, J; Sequeira, F; Gonzales, A. 1977. First occurrence of the coffee leaf rust *Hemileia vastatrix* in Nicaragua, 1976, and its control. *Café, Cacao, Thé* 3:197-201.
- Segura, B. 2016. Efecto de la sombra en el cultivo del café sobre los procesos de esporulación, la dispersión a través de agua y la deposición, de *Hemileia vastatrix*, en Turrialba, Costa Rica. Thesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE
- Toniutti, L; Breitler, J; Etienne, B; Campa, C; Doulbeau, S; Urban, L; Lambot, C; Pinilla, J; Bernoit, B. 2017. Influence of Environmental Conditions and Genetic Background of *Arabica coffee* (*C. arabica* L) on Leaf Rust (*Hemileia vastatrix*) Pathogenesis. Vol. 8, Article 2025. Consultado 2 feb. 2018. Disponible en <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2017.02025/full>.
- Valarini, V; Bataglia, O; Fazuoli, L. 2005. Macronutrientes em folhas e frutos de cultivares de café arábica de porte baixo. *Bragantia* 64(4):661-672. Consultado 2 feb. 2018. Disponible en <http://www.scielo.br/pdf/brag/v64n4/a16v64n4.pdf>.
- Valencia, G. 1999. Fisiología, nutrición y fertilización del cafeto. Chinchiná, Colombia, Cenicafé-Agroinsumos del Café. 94 p. Consultado 31 oct. 2016. Disponible en <http://www.sidalc.net/cgi->

bin/wxis.exe/?IsisScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=006413.

- Villarreyna, R. 2014. Análisis de las condiciones de manejo que propiciaron el impacto de la roya (*Hemileia vastatrix*) en la zona cafetalera de los municipios de Jinotega, el Tuma-La Dalia y San Ramón, Nicaragua. Thesis Mag. Sc. Turrialba, Costa Rica, CATIE. 68 p.
- Villarreyna, R. 2016. Efecto de los árboles de sombra sobre el suelo, en sistemas agroforestales con café, incluyendo la fenología y fisiología de los cafetos. s. l. CATIE. Consultado 9 ene. 2018. Disponible en https://www.researchgate.net/profile/Rogelio_Villarreyna_Acuna/publication/312190381_Efecto_de_los_arboles_de_sombra_sobre_el_suelo_en_sistemas_agroforestales_con_cafe_incluyendo_la_fenologia_y_fisiologia_de_los_cafetos/links/5875170408ae329d62205c5e/Efecto-de-los-arboles-de-sombra-sobre-el-suelo-en-sistemas-agroforestales-con-cafe-incluyendo-la-fenologia-y-fisiologia-de-los-cafetos.pdf.
- Virginio Filho, EdM; Hagggar, J; Staver, C. 2002. Sostenibilidad y sinergismo en sistemas agroforestales con café: Estudio de largo plazo de interacciones agroecológicas.
- Zambolim, L; Chaves, G; Do Vale, F; Pereira, A. 1994. Manejo integrado das doenças do cafeeiro em cultivo adensado. *In* Simposio Internacional sobre café adensado. Londrina, Brasil. ANAIS. p. 151-182.

8. Anexos

Anexo 1. Análisis de suelos inicial, del suelo utilizado como sustrato para el experimento 3



LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, TEJIDO VEGETAL Y AGUAS.

TEL: (506) 25582377. FAX 25582060. [Http://www.catie.ac.cr](http://www.catie.ac.cr)

Nombre del Cliente: Víctor Roberto Naranjo Zúñiga.

Nombre Agricultor:

Dirección de la Finc Zona de los Santos, San José.

Tipo de muestra: Suelo.

Fecha Ingreso: 16/05/2016.

Fecha Análisis: 25/05/2016.

Fecha de Reporte: 26/05/2016.

Método Análisis: Extracción en Olsen Modificado pH 8.5, para determinación de Cu, Zn, Mn, Fe, K y P.
Extracción en Cloruro de Potasio 1N para determinación de Ca, Mg y Acidez Intercambiable.
pH en agua.

No. Reporte: NR16-052

No.		Identifi cación	Prof.	pH	Acidez	Ca	Mg	K		P	Cu	Zn	Mn	Fe	C.O.	M.O.
Lab.			cm	H ₂ O	-----cmol(+)/l-----					mg/l		-----mg/l-----			%	%
LS16-	422	# 1		4,4	1,78	0,56	0,16	0,38		5,6	22	3,2	6,5	20	0,31	0,53
LS16-	423	# 2		4,4	1,91	0,58	0,17	0,38		5,9	20	3,0	6,1	24	0,30	0,52
LS16-	424	# 3		4,5	1,84	0,53	0,18	0,35		4,5	20	3,1	5,3	28	0,31	0,53

Los resultados anteriores corresponden a las muestras ingresadas al laboratorio por el cliente.

Anexo 2. Correlaciones de Pearson para los experimentos 1 y 2 respectivamente, con las variables de suelo, foliares y variables latentes 1, 2 y 3.

		Experimento 1						Experimento 2					
		Latente1		Latente2		Latente3		Latente1		Latente2		Latente3	
		p*	r*	p	r	p	r	p	r	p	r	p	r
Variables foliares	Ca	0,010	-0,49	0,71	0,07	0,59	0,1	0,01	0,46	0,21	-0,24	0,700	0,07
	Mg	0,010	0,45	0,79	-0,05	0,06	0,35	0,51	-0,13	0,06	-0,34	0,550	-0,11
	K	0,020	-0,42	0,12	0,29	0,76	-0,06	0,00	0,56	0,57	0,11	0,010	0,46
	P	0,000	-0,61	0,59	-0,1	0,26	0,21	0,00	0,69	0,36	-0,17	0,100	0,30
	N	0,030	0,4	0,08	0,32	0,07	0,33	0,07	0,33	0,46	-0,14	0,430	0,15
	Cu	0,43	-0,15	0,15	-0,27	1,00	-1,40E-04	0,96	-0,01	0,37	-0,17	0,440	0,15
	Zn	0,12	0,29	0,57	-0,11	0,33	0,18	0,30	0,19	0,02	0,42	0,050	0,36
	Mn	0,000	0,65	0,97	0,01	0,03	0,4	0,00	-0,68	0,88	-0,03	0,050	-0,36
	Fe	0,07	-0,34	0,40	0,16	0,35	0,18	1,00	0,00	0,82	-0,04	0,490	0,13
Variables de suelo	pH	0,000	-0,95	0,37	-0,17	0,50	0,13	0,00	0,96	0,51	-0,12	0,520	-0,12
	Acidez	0,000	0,82	0,01	0,46	0,12	0,29	0,00	-0,87	0,13	0,28	0,050	-0,36
	Ca	0,000	-0,98	0,41	-0,15	0,96	0,01	0,00	0,99	0,68	-0,08	0,890	-0,03
	Mg	0,000	-0,93	0,36	-0,17	0,57	-0,11	0,00	0,95	0,73	-0,07	0,590	0,10
	K	0,000	-0,71	0,01	0,5	0,91	-0,02	0,00	0,66	0,01	0,47	0,160	-0,26
	P	0,000	-0,79	0,02	0,41	0,03	0,4	0,00	0,73	0,07	0,33	0,002	-0,54
	Cu	0,11	-0,3	0,00	0,72	0,01	-0,48	0,17	0,26	0,00	0,85	0,180	0,25
	Zn	0,000	-0,65	0,01	0,45	0,62	0,09	0,00	0,61	0,00	0,50	0,250	-0,22
	Mn	0,001	0,58	0,70	-0,07	1,00	-6,40E-04	0,00	-0,56	0,63	-0,09	0,680	0,08
	Fe	0,1	0,3	0,00	0,75	0,01	-0,46	0,06	-0,35	0,00	0,83	0,210	0,24
	S.A	0,000	0,84	0,01	0,46	0,15	0,27	0,00	-0,89	0,12	0,29	0,060	-0,34
	CICE	0,000	-0,93	0,34	0,18	0,20	0,24	0,00	0,90	0,41	0,16	0,060	-0,35
	Latente1	1	1	1,00	0	1,00	0	1,00	1,00	1,00	0,00	1,000	0,00
	Latente2	0	1,00	1,00	1,00	1,00	0,00	0,00	1,00	1,00	1,00	1,000	0,00
	Latente3	0	1,00	0,00	1,00	1,00	1,00	0,00	1,000	0,00	1,000	1,000	1,000

p*= p-valor.

r*= Coeficiente de correlación de Pearson.